

**ISOLIERUNG VON L-FORMEN
AUS TAUBEN
(COLUMBA LIVIA, GMEL. 1789)
UND DEREN EIERN
UNTER BESONDERER
BERÜCKSICHTIGUNG VON
SALMONELLA TYPHIMURIUM
VAR. COPENHAGEN**

DAGMAR KIESSLING

Disbui. München

1989

Aus dem Institut für Geflügelkrankheiten
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Vorstand: Prof. Dr. Josef Kösters
Arbeit angefertigt unter Leitung von
Prof. Dr. Dr. habil. Helga Gerlach

Isolierung von L-Formen aus Tauben (*Columba livia*, Gmel. 1789)
und deren Eiern unter besonderer Berücksichtigung von
Salmonella typhimurium var. *copenhagen*

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von

Dagmar Kießling

aus Triberg

München 1989

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. M. Rüsse

Referent: Prof. Dr. Dr. habil. H. Gerlach

Korreferent: Univ.-Prof. Dr. M.J. Forstner

Tag der Promotion: 28. Juli 1989

1	Einleitung	1
2	1. Abschnitt	2
2.1	1.1. Kapitel	2
2.2	1.2. Kapitel	3
2.3	1.3. Kapitel	4
2.4	1.4. Kapitel	5
2.5	1.5. Kapitel	6
2.6	1.6. Kapitel	7
2.7	1.7. Kapitel	8
2.8	1.8. Kapitel	9
2.9	1.9. Kapitel	10
2.10	1.10. Kapitel	11
2.11	1.11. Kapitel	12
2.12	1.12. Kapitel	13
2.13	1.13. Kapitel	14
2.14	1.14. Kapitel	15
2.15	1.15. Kapitel	16
2.16	1.16. Kapitel	17
2.17	1.17. Kapitel	18
2.18	1.18. Kapitel	19
2.19	1.19. Kapitel	20
2.20	1.20. Kapitel	21
2.21	1.21. Kapitel	22
2.22	1.22. Kapitel	23
2.23	1.23. Kapitel	24
2.24	1.24. Kapitel	25
2.25	1.25. Kapitel	26
2.26	1.26. Kapitel	27
2.27	1.27. Kapitel	28
2.28	1.28. Kapitel	29
2.29	1.29. Kapitel	30
2.30	1.30. Kapitel	31
2.31	1.31. Kapitel	32
2.32	1.32. Kapitel	33
2.33	1.33. Kapitel	34
2.34	1.34. Kapitel	35
2.35	1.35. Kapitel	36
2.36	1.36. Kapitel	37
2.37	1.37. Kapitel	38
2.38	1.38. Kapitel	39
2.39	1.39. Kapitel	40
2.40	1.40. Kapitel	41
2.41	1.41. Kapitel	42
2.42	1.42. Kapitel	43
2.43	1.43. Kapitel	44
2.44	1.44. Kapitel	45
2.45	1.45. Kapitel	46
2.46	1.46. Kapitel	47
2.47	1.47. Kapitel	48
2.48	1.48. Kapitel	49
2.49	1.49. Kapitel	50
2.50	1.50. Kapitel	51
2.51	1.51. Kapitel	52
2.52	1.52. Kapitel	53
2.53	1.53. Kapitel	54
2.54	1.54. Kapitel	55
2.55	1.55. Kapitel	56
2.56	1.56. Kapitel	57
2.57	1.57. Kapitel	58
2.58	1.58. Kapitel	59
2.59	1.59. Kapitel	60
2.60	1.60. Kapitel	61
2.61	1.61. Kapitel	62
2.62	1.62. Kapitel	63
2.63	1.63. Kapitel	64
2.64	1.64. Kapitel	65
2.65	1.65. Kapitel	66
2.66	1.66. Kapitel	67
2.67	1.67. Kapitel	68
2.68	1.68. Kapitel	69
2.69	1.69. Kapitel	70
2.70	1.70. Kapitel	71
2.71	1.71. Kapitel	72
2.72	1.72. Kapitel	73
2.73	1.73. Kapitel	74
2.74	1.74. Kapitel	75
2.75	1.75. Kapitel	76
2.76	1.76. Kapitel	77
2.77	1.77. Kapitel	78
2.78	1.78. Kapitel	79
2.79	1.79. Kapitel	80
2.80	1.80. Kapitel	81
2.81	1.81. Kapitel	82
2.82	1.82. Kapitel	83
2.83	1.83. Kapitel	84
2.84	1.84. Kapitel	85
2.85	1.85. Kapitel	86
2.86	1.86. Kapitel	87
2.87	1.87. Kapitel	88
2.88	1.88. Kapitel	89
2.89	1.89. Kapitel	90
2.90	1.90. Kapitel	91
2.91	1.91. Kapitel	92
2.92	1.92. Kapitel	93
2.93	1.93. Kapitel	94
2.94	1.94. Kapitel	95
2.95	1.95. Kapitel	96
2.96	1.96. Kapitel	97
2.97	1.97. Kapitel	98
2.98	1.98. Kapitel	99
2.99	1.99. Kapitel	100
3	2. Abschnitt	101
3.1	2.1. Kapitel	101
3.2	2.2. Kapitel	102
3.3	2.3. Kapitel	103
3.4	2.4. Kapitel	104
3.5	2.5. Kapitel	105
3.6	2.6. Kapitel	106
3.7	2.7. Kapitel	107
3.8	2.8. Kapitel	108
3.9	2.9. Kapitel	109
3.10	2.10. Kapitel	110
3.11	2.11. Kapitel	111
3.12	2.12. Kapitel	112
3.13	2.13. Kapitel	113
3.14	2.14. Kapitel	114
3.15	2.15. Kapitel	115
3.16	2.16. Kapitel	116
3.17	2.17. Kapitel	117
3.18	2.18. Kapitel	118
3.19	2.19. Kapitel	119
3.20	2.20. Kapitel	120
3.21	2.21. Kapitel	121
3.22	2.22. Kapitel	122
3.23	2.23. Kapitel	123
3.24	2.24. Kapitel	124
3.25	2.25. Kapitel	125
3.26	2.26. Kapitel	126
3.27	2.27. Kapitel	127
3.28	2.28. Kapitel	128
3.29	2.29. Kapitel	129
3.30	2.30. Kapitel	130
3.31	2.31. Kapitel	131
3.32	2.32. Kapitel	132
3.33	2.33. Kapitel	133
3.34	2.34. Kapitel	134
3.35	2.35. Kapitel	135
3.36	2.36. Kapitel	136
3.37	2.37. Kapitel	137
3.38	2.38. Kapitel	138
3.39	2.39. Kapitel	139
3.40	2.40. Kapitel	140
3.41	2.41. Kapitel	141
3.42	2.42. Kapitel	142
3.43	2.43. Kapitel	143
3.44	2.44. Kapitel	144
3.45	2.45. Kapitel	145
3.46	2.46. Kapitel	146
3.47	2.47. Kapitel	147
3.48	2.48. Kapitel	148
3.49	2.49. Kapitel	149
3.50	2.50. Kapitel	150
3.51	2.51. Kapitel	151
3.52	2.52. Kapitel	152
3.53	2.53. Kapitel	153
3.54	2.54. Kapitel	154
3.55	2.55. Kapitel	155
3.56	2.56. Kapitel	156
3.57	2.57. Kapitel	157
3.58	2.58. Kapitel	158
3.59	2.59. Kapitel	159
3.60	2.60. Kapitel	160
3.61	2.61. Kapitel	161
3.62	2.62. Kapitel	162
3.63	2.63. Kapitel	163
3.64	2.64. Kapitel	164
3.65	2.65. Kapitel	165
3.66	2.66. Kapitel	166
3.67	2.67. Kapitel	167
3.68	2.68. Kapitel	168
3.69	2.69. Kapitel	169
3.70	2.70. Kapitel	170
3.71	2.71. Kapitel	171
3.72	2.72. Kapitel	172
3.73	2.73. Kapitel	173
3.74	2.74. Kapitel	174
3.75	2.75. Kapitel	175
3.76	2.76. Kapitel	176
3.77	2.77. Kapitel	177
3.78	2.78. Kapitel	178
3.79	2.79. Kapitel	179
3.80	2.80. Kapitel	180
3.81	2.81. Kapitel	181
3.82	2.82. Kapitel	182
3.83	2.83. Kapitel	183
3.84	2.84. Kapitel	184
3.85	2.85. Kapitel	185
3.86	2.86. Kapitel	186
3.87	2.87. Kapitel	187
3.88	2.88. Kapitel	188
3.89	2.89. Kapitel	189
3.90	2.90. Kapitel	190
3.91	2.91. Kapitel	191
3.92	2.92. Kapitel	192
3.93	2.93. Kapitel	193
3.94	2.94. Kapitel	194
3.95	2.95. Kapitel	195
3.96	2.96. Kapitel	196
3.97	2.97. Kapitel	197
3.98	2.98. Kapitel	198
3.99	2.99. Kapitel	199
4	3. Abschnitt	200
4.1	3.1. Kapitel	200
4.2	3.2. Kapitel	201
4.3	3.3. Kapitel	202
4.4	3.4. Kapitel	203
4.5	3.5. Kapitel	204
4.6	3.6. Kapitel	205
4.7	3.7. Kapitel	206
4.8	3.8. Kapitel	207
4.9	3.9. Kapitel	208
4.10	3.10. Kapitel	209
4.11	3.11. Kapitel	210
4.12	3.12. Kapitel	211
4.13	3.13. Kapitel	212
4.14	3.14. Kapitel	213
4.15	3.15. Kapitel	214
4.16	3.16. Kapitel	215
4.17	3.17. Kapitel	216
4.18	3.18. Kapitel	217
4.19	3.19. Kapitel	218
4.20	3.20. Kapitel	219
4.21	3.21. Kapitel	220
4.22	3.22. Kapitel	221
4.23	3.23. Kapitel	222
4.24	3.24. Kapitel	223
4.25	3.25. Kapitel	224
4.26	3.26. Kapitel	225
4.27	3.27. Kapitel	226
4.28	3.28. Kapitel	227
4.29	3.29. Kapitel	228
4.30	3.30. Kapitel	229
4.31	3.31. Kapitel	230
4.32	3.32. Kapitel	231
4.33	3.33. Kapitel	232
4.34	3.34. Kapitel	233
4.35	3.35. Kapitel	234
4.36	3.36. Kapitel	235
4.37	3.37. Kapitel	236
4.38	3.38. Kapitel	237
4.39	3.39. Kapitel	238
4.40	3.40. Kapitel	239
4.41	3.41. Kapitel	240
4.42	3.42. Kapitel	241
4.43	3.43. Kapitel	242
4.44	3.44. Kapitel	243
4.45	3.45. Kapitel	244
4.46	3.46. Kapitel	245
4.47	3.47. Kapitel	246
4.48	3.48. Kapitel	247
4.49	3.49. Kapitel	248
4.50	3.50. Kapitel	249
4.51	3.51. Kapitel	250
4.52	3.52. Kapitel	251
4.53	3.53. Kapitel	252
4.54	3.54. Kapitel	253
4.55	3.55. Kapitel	254
4.56	3.56. Kapitel	255
4.57	3.57. Kapitel	256
4.58	3.58. Kapitel	257
4.59	3.59. Kapitel	258
4.60	3.60. Kapitel	259
4.61	3.61. Kapitel	260
4.62	3.62. Kapitel	261
4.63	3.63. Kapitel	262
4.64	3.64. Kapitel	263
4.65	3.65. Kapitel	264
4.66	3.66. Kapitel	265
4.67	3.67. Kapitel	266
4.68	3.68. Kapitel	267
4.69	3.69. Kapitel	268
4.70	3.70. Kapitel	269
4.71	3.71. Kapitel	270
4.72	3.72. Kapitel	271
4.73	3.73. Kapitel	272
4.74	3.74. Kapitel	273
4.75	3.75. Kapitel	274
4.76	3.76. Kapitel	275
4.77	3.77. Kapitel	276
4.78	3.78. Kapitel	277
4.79	3.79. Kapitel	278
4.80	3.80. Kapitel	279
4.81	3.81. Kapitel	280
4.82	3.82. Kapitel	281
4.83	3.83. Kapitel	282
4.84	3.84. Kapitel	283
4.85	3.85. Kapitel	284
4.86	3.86. Kapitel	285
4.87	3.87. Kapitel	286
4.88	3.88. Kapitel	287
4.89	3.89. Kapitel	288
4.90	3.90. Kapitel	289
4.91	3.91. Kapitel	290
4.92	3.92. Kapitel	291
4.93	3.93. Kapitel	292
4.94	3.94. Kapitel	293
4.95	3.95. Kapitel	294
4.96	3.96. Kapitel	295
4.97	3.97. Kapitel	296
4.98	3.98. Kapitel	297
4.99	3.99. Kapitel	298
5	4. Abschnitt	299
5.1	4.1. Kapitel	299
5.2	4.2. Kapitel	300
5.3	4.3. Kapitel	301
5.4	4.4. Kapitel	302
5.5	4.5. Kapitel	303
5.6	4.6. Kapitel	304
5.7	4.7. Kapitel	305
5.8	4.8. Kapitel	306
5.9	4.9. Kapitel	307
5.10	4.10. Kapitel	308
5.11	4.11. Kapitel	309
5.12	4.12. Kapitel	310
5.13	4.13. Kapitel	311
5.14	4.14. Kapitel	312
5.15	4.15. Kapitel	313
5.16	4.16. Kapitel	314
5.17	4.17. Kapitel	315
5.18	4.18. Kapitel	316
5.19	4.19. Kapitel	317
5.20	4.20. Kapitel	318
5.21	4.21. Kapitel	319
5.22	4.22. Kapitel	320
5.23	4.23. Kapitel	321
5.24	4.24. Kapitel	322
5.25	4.25. Kapitel	323
5.26	4.26. Kapitel	324
5.27	4.27. Kapitel	325
5.28	4.28. Kapitel	326
5.29	4.29. Kapitel	327
5.30	4.30. Kapitel	328
5.31	4.31. Kapitel	329
5.32	4.32. Kapitel	330
5.33	4.33. Kapitel	331
5.34	4.34. Kapitel	332
5.35	4.35. Kapitel	333
5.36	4.36. Kapitel	334
5.37	4.37. Kapitel	335
5.38	4.38. Kapitel	336
5.39	4.39. Kapitel	337
5.40	4.40. Kapitel	338
5.41	4.41. Kapitel	339
5.42	4.42. Kapitel	340
5.43	4.43. Kapitel	341
5.44	4.44. Kapitel	342
5.45	4.45. Kapitel	343
5.46	4.46. Kapitel	344
5.47	4.47. Kapitel	345
5.48	4.48. Kapitel	346
5.49	4.49. Kapitel	347
5.50	4.50. Kapitel	348
5.51	4.51. Kapitel	349
5.52	4.52. Kapitel	350
5.53	4.53. Kapitel	351
5.54	4.54. Kapitel	352
5.55	4.55. Kapitel	353
5.56	4.56. Kapitel	354
5.57	4.57. Kapitel	355
5.58	4.58. Kapitel	356
5.59	4.59. Kapitel	357
5.60	4.60. Kapitel	358
5.61	4.61. Kapitel	359
5.62	4.62. Kapitel	360
5.63	4.63. Kapitel	361
5.64	4.64. Kapitel	362
5.65	4.65. Kapitel	363
5.66	4.66. Kapitel	364
5.67	4.67. Kapitel	365
5.68	4.68. Kapitel	366
5.69	4.69. Kapitel	367
5.70	4.70. Kapitel	368
5.71	4.71. Kapitel	369
5.72	4.72. Kapitel	370
5.73	4.73. Kapitel	371
5.74	4.74. Kapitel	372
5.75	4.75. Kapitel	373
5.76	4.76. Kapitel	374
5.77	4.77. Kapitel	375
5.78	4.78. Kapitel	376
5.79	4.79. Kapitel	377
5.80	4.80. Kapitel	378
5.81	4.81. Kapitel	379
5.82	4.82. Kapitel	380
5.83	4.83. Kapitel	381
5.84	4.84. Kapitel	382
5.85	4.85. Kapitel	383
5.86	4.86. Kapitel	384
5.87	4.87. Kapitel	385
5.88	4.88. Kapitel	386
5.89	4	

Inhaltsverzeichnis

Seite

1.	Einleitung.....	1
2.	Literatur.....	2
2.1.	Salmonella typhimurium var. copenhagen.....	2
2.2.	L-Formen.....	4
2.2.1.	Definitionen.....	4
2.2.2.	Vorkommen in klinischem Material.....	8
2.2.3.	Morphologie.....	10
2.2.3.1.	Koloniemorphologie.....	11
2.2.3.2.	Ultrastruktur.....	13
2.2.4.	Reproduktion.....	14
2.2.5.	Induktion.....	16
2.2.6.	Reversion.....	23
2.2.7.	Identifikation.....	27
2.2.8.	Kultur.....	30
2.2.9.	Reaktionen des Wirtes auf L-Formen.....	32
2.2.10.	Antibiotika - Therapie.....	34
3.	Eigene Untersuchungen.....	36
3.1.	Material und Methode.....	36
3.1.1.	Probenmaterial.....	36
3.1.2.	Verarbeitung des Probenmaterials.....	37
3.1.3.	Bakteriologische Untersuchung.....	38
3.1.4.	Serologische Untersuchungen.....	40
3.1.5.	Antibiogramme.....	40
4.	Ergebnisse.....	41
4.1.	Probenmaterial.....	41
4.2.	Sektionsergebnisse.....	43
4.3.	Bakteriologische Ergebnisse.....	45
4.3.1.	Salmonella typhimurium var. copenhagen.....	52
4.3.2.	L-Formen anderer Bakterien.....	54

	Seite
4.3.3. Elektronenmikroskopische Abbildungen von der parentalen und der L-Form von Salmonella typhimurium var. copenhagen.....	55
4.4. Serologische Befunde.....	57
4.5. Antibiotogramme.....	59
5. Diskussion.....	60
6. Zusammenfassung.....	67
Summary.....	68
Resumen.....	69
7. Literaturverzeichnis.....	70
8. Anhang.....	85

Verzeichnis der Abkürzungen

A.	Actinomyces
A-Streptokokken	Streptokokken der Lancefieldgruppe A
Art.	Articulatio
Bac.	Bacillus
D-Streptokokken	Streptokokken der Lancefieldgruppe D
DAP	Diaminopimelinsäure
DNS	Desoxyribonukleinsäure
E.	Escherichia
EDTA	Ethylen-diamin-tetraacetat
Er.	Erysipelothrix
h	Stunde
lag-Phase	Anlauf-Phase
log-Phase	logarithmische Wachstumsphase
L.	Listeria
M.	Mycobacterium
N.	Nocardia
PGE	Polyethylen-Glycol
Prot.	Proteus
Rasset.	Rassetaupe
Reiset.	Reisetaupe
S.	Salmonella
Staph.	Staphylococcus
STMC	Salmonella typhimurium var. copenhagen
Strept.	Streptococcus

1. EINLEITUNG

L-Formen wurden erstmals von KLIENEGER (1935) im Lister-Institut London beschrieben. Die Abkürzung "L" bedeutet Lister-Institut.

Einen wichtigen Schritt zum Verständnis der L-Formen hat DIENES (1938) vollzogen. Er ist der Ansicht, daß die pleomorphen Formen, die KLIENEGER (1935) in einer Kultur von *Streptobacillus moniliformis* beschrieben hat, von diesen Bakterien abstammen und nicht als symbiotische Mycoplasmen angesehen werden dürfen. Die Bildung von L-Formen ist eine allgemeine Eigenschaft vieler, wenn nicht aller Bakterienarten und nicht nur einzelner Stämme (HIJMANS et al., 1969).

Da L-Formen jedoch auf den bei üblichen bakteriologischen Untersuchungen verwendeten Nährböden nicht wachsen, ist über ihre tatsächliche Verbreitung bei Säugetieren und Vögeln wenig bekannt. Andererseits können Krankheitserreger in der L-Form Therapie- und Impfmaßnahmen unterlaufen (SEARS, 1984 - mündliche Mitteilung) und so ein Reservoir für den betreffenden Erreger in einer Population bilden, von wo aus eine Weiterverbreitung innerhalb der Gruppe und nach außen möglich ist.

Bei Haustauben spielt *Salmonella typhimurium* var. copenhagen als eine an Tauben angepaßte Subspezies eine große Rolle. Trotz eines erheblichen Aufwandes an Antibiotika und Impfstoffen hat es in den letzten 30 Jahren keine wesentliche Verbesserung der Situation gegeben. Es wurde mir deshalb die Aufgabe übertragen, Tauben systematisch auf das Vorkommen von bakteriellen L-Formen, besonders der von STMC zu untersuchen.

2. LITERATUR

2.1. SALMONELLA TYPHIMURIUM VAR. COPENHAGEN

Die Taubensalmonellose wird überwiegend durch STMC verursacht. Nach Institutserfahrung sind 1988 4,4% der untersuchten Stadttauben und 28,5% der Reise- und Rassetauben mit STMC verseucht. STMC gilt als eine an Tauben und echte Finkenvögel adaptierte Biovariante (WILLIAMS, 1975). Nach WUTHE (1978) kann die an Tauben angepaßte Variante Malonat abbauen, während dies die an Finkenvögel angepaßte Form nicht vermag. Als Minusvariante zeichnet sich STMC durch das Fehlen des 05-Antigens aus und besitzt nach dem Kauffmann-White Schema die Antigenformel 01,4,-,12;H i; 1,2 (KAUFFMANN, 1934).

Durch latent infizierte Tiere kann bei gemeinsamen Taubentransporten unterschiedlicher Herkunft der Erreger in Bestände eingeschleppt werden und sich dort über mit Kot verschmutztes Trinkwasser oder Futter weiterverbreiten (PIETZSCH, 1981). Taubenküken können sich über die Kropfmilch anstecken. Bei der Weiterverbreitung der Krankheit spielt die transovarielle Übertragung eine nicht unerhebliche Rolle. Eine Infektion des Bruteies und des daraus schlüpfenden Kükens kann einerseits durch hämatogene Infektion der Eifollikel, durch Kontakt mit einem infizierten Peritoneum oder Luftsack übertragen werden und andererseits durch Kontamination der Eischale in der Kloake beim Legeakt (GERLACH, 1969). Hämatogen übertragene *S. typhimurium* können nach Institutserfahrung von der Vitellinmembran isoliert werden. Bei Tauben gilt die Eiübertragung als gesichert (WÜTIG, 1931). Es kommt durch die Eiübertragung zu geschlossenen Infektketten ohne exogene Vektoren. Dies setzt ein Gleichgewicht zwischen Abwehrlage des Wirts, der Virulenz des Erregers und der Keimzahl voraus. Nach OCHSENHIRT (1974) sind mit *S. typhimurium* infizierte Hühnereier schlupffähig, wenn die Zahl der Salmonellen auf der Vitellinmem-

bran unter zehn liegt. Die Untersuchungen von OCHSENHIRT (1974) zeigen weiter, daß so geringe Zahlen eines pathogenen Stammes von *S. typhimurium* einen normal entwickelten Hühnerembryo nicht regelmäßig abtöten. Es kann sich eine gegenseitige Tolerierung ausbilden, indem der Embryo die Azidität im oberen Verdauungstrakt erhöht und die Salmonelle sich an den niedrigeren pH-Wert adaptiert. Sind diese Keime vor der postnatalen Darmbesiedelung vorhanden, so werden sie als ein Teil der sich aufbauenden Darmflora integriert. Das erklärt ihre langdauernde Persistenz.

Nach KÖSTERS (1980) kann die Salmonellainfektion der Taube in unterschiedlichen Formen auftreten. Bei der passageren Form wird der Erreger durch den Magendarmtrakt geschleust, ohne daß eine Keimansiedelung möglich wird. Die inapparente Infektion zeichnet sich dadurch aus, daß sich der Keim vermehren und auch in verschiedenen Organen ansiedeln kann, ohne jedoch klinische Erscheinungen zu verursachen. Bei der klinischen Verlaufsform kann es zu akuten oder chronischen Erkrankungen mit Septikämie, Enteritis, Hepatitis, Nephritis und seltener zu encephalitischen Erscheinungen kommen, daneben können sich Gelenksentzündungen entwickeln. Nach PIETZSCH (1981) sind pathologisch-anatomische Veränderungen durch STMC Nekrosen oder Granulome in Skelett- und Halsmuskulatur, Leber, Lungen, Nieren und Pankreas sowie Milzschwellung, Geschwürbildung oder Granulome im Darm, Follikeldegeneration am Ovar, Orchitis und fibrinöse Entzündungen in Kropf und Speiseröhre.



2.2. L-FORMEN

2.2.1. DEFINITIONEN

Die Nomenklatur über bakterielle L-Formen, d.h. ihre Morphologie und Organellen sowie deren Übergangsformen von parentale in L-Formen und zurück in parentale Stämme, ist uneinheitlich. Möglicherweise werden gleiche Strukturen unterschiedlich benannt. Da L-Formen von vielen Bakterienarten unter variablen Umweltbedingungen gebildet werden können, sind morphologisch abweichende Formen und entsprechende Bezeichnungen zu erwarten.

Nachfolgend wird versucht, die von den einzelnen Autoren verwendeten Bezeichnungen zu definieren:

McGEE & WITTLER (1969) fassen unter dem Begriff "wall-defective microbial variants" Protoplasten, Sphäroplasten, Übergangsformen, L-Formen und unklassifizierbare wanddefekte Bakterien zusammen.

"L-phase variants" nach McGEE & WITTLER (1969) sind Formen, die keine starre Zellwand mehr besitzen, aber unterschiedliche Mengen von Zellwandmaterial aufweisen können. Sie können größer oder kleiner als die elterliche Bakterienform sein und sich vermehren. Die L-Formen auch der grampositiven Bakterien färben sich gramnegativ und sind Penicillin-resistent. L-Formen gehören nach MADOFF et al. (1966) zu den zellwandgeschädigten Bakterienvarianten ohne Änderung der genetischen Konstitution.

"Instabile" L-Formen nach McGEE & WITTLER (1969) revertieren bei Entzug des induzierenden Agens zur elterlichen Form. Revertieren sie nicht, werden sie als "stabil" angesehen. Andere Formen wandeln sich nur unter "Spezialbedingungen" um und werden als "relativ stabil" angesehen. Stabile L-Formen von Bac. licheniformis besitzen laut WARD & WYRICK (unveröffentlichte Daten in WYRICK & ROGERS, 1973) keinerlei Zellwandkomponenten mehr, auch nach SQUIRES et al. (1984) haben stabile L-Formen keine Wandreste mehr. L-Formen des "Sphäroplasttyps" haben noch Zellwandkomponen-

ten und können stabil oder instabil sein. "Sphäroplasten" nach McGEE & WITTLER (1969) enthalten noch Zellwandmaterial. L-Formen des "Protoplasttyps" haben keinerlei Zellwandkomponenten mehr und werden als stabil angesehen (TAUBENECK & GUMPERT, 1967). "Protoplasten" nach McGEE & WITTLER (1969) besitzen keinerlei Zellwand mehr. Nach ANDERSON (1969) werden Protoplasten von einer aus kleinen Einheiten zusammengesetzten Membran umgeben, haben einen hohen Anteil an Ribosomen im Cytoplasma und eine Kernzone. Sie gleichen Mycoplasmazellen. Auch HOFSCHNEIDER & MARTIN (1968) sprechen im gleichen Sinn von "Protoplasttyp" und "Sphäroplasttyp" bei einem Stamm von *Prot. mirabilis*. Sowohl Sphäroplasten als auch Protoplasten werden als L-Formen definiert, sobald sie sich als solche vermehren.

Die Grenzen zwischen stabilen und instabilen Formen ist nach WITTLER (1968), DIENES (1968) und LITTLE & BOSBERRY (1973) als fließend zu betrachten. Sie sind zum einen der Ansicht, daß die meisten L-Formen kurze Zeit nach der Entstehung noch instabil sind, zum anderen sollen die Formen erst nach mehreren Passagen in vitro oder nach längerem Hemmstoffeinfluß stabil werden. Außerdem besitzen in vitro stabilisierte L-Formen die Eigenschaft, u.U. plötzlich zu revertieren, wenn sie in einen lebenden Organismus verbracht werden.

"Übergangsformen" nach McGEE & WITTLER (1969) verändern von Passage zu Passage das Aussehen ihrer Kolonie und des Einzelkeimes. Unterschiede treten auch bei der Gramfärbung und dem Grad der Penicillinresistenz auf. Ihre anfänglichen Wachstumsansprüche unterscheiden sich von denen der elterlichen Bakterien.

"Unklassifizierte wanddefekte Varianten" nach McGEE & WITTLER (1969) sind Formen, die in keine der obengenannten Gruppen einzuordnen sind, z.B. Formen, die als scheinbar elterliche Formen auf hypertonen Medien wachsen, nicht aber auf Routinenährmedien.

"Stammzellen" nach GREEN et al. (1974 A) sind kleine dichte, selten über 1,8 µm große L-Formen ohne Vesikel im Inneren. Diese

Stammzellen können sich innerhalb von "Mutterformen" entwickeln und selbst zu Mutterformen heranwachsen (BIBEL & LAWSON, 1972; MAXED, 1968).

"Elementarkörperchen" in Zusammenhang mit L-Formen dürfen nicht mit den Elementarkörperchen der Chlamydien verwechselt werden. "Elementarkörperchen" nach HIJMANS et al. (1969) sind 0,05 - 0,5 μm groß. Nach GREEN et al. (1974 A) können sie sich zu Stammzellen entwickeln. Kleinere Elementarkörperchen, oft durch Abtrennung von kleinen Randteilen einer Zelle entstanden, werden von BIBEL & LAWSON (1972) und FASS (1973) als nicht lebensfähig angesehen, wenn sie entweder eine fehlerhafte oder gar keine DNS enthalten. Allein nicht lebensfähige Elementarkörperchen können nach GREEN et al. (1974 A) aber in einem Vesikel oder in engem Kontakt zur Mutterform heranreifen. Die Mehrzahl der Elementarkörperchen sind nach WYRICK & ROGERS (1973) selbstständige Einheiten innerhalb eines Vesikels. Sie können über innere Membranbildung entstehen.

"Large bodies" nach PACHAS & CURRID (1974) wachsen entweder zu typischer L-Form mit vielen Vesikeln im Inneren aus oder sie reproduzieren neue "large bodies", andere degenerieren vakuolig und lysieren. Nach WYRICK & ROGERS (1973) haben "large bodies" diffus verteiltes Kernmaterial. Viele enthalten Vesikel, von denen einige Elementarkörperchen beherbergen. "Large bodies" nach HIJMANS et al. (1969) sind 1 - 50 μm groß. Sie haben ein homogenes Cytoplasma oder besitzen einzelne bis viele Vesikel im Inneren, die diese Autoren als "Vacuolen" bezeichnen. In den Vesikeln und im Cytoplasma liegen Granula verschiedener Größe und Anzahl. "Large bodies" sind leicht verformbar und weisen daher unterschiedliche Gestalten auf. Sie sind oberflächlich auf dem Agar zu finden.

"Granula" nach HIJMANS et al. (1969) sind 0,1 - 1 μm groß, rund oder länglich. Sie können innerhalb und außerhalb der "large bodies" vorkommen. Granula können sich als solche, in Agar eingebettet, vermehren (DIENES, 1968). Der "granuläre Kolonietyp" nach

PACHAS & CURRID (1974) besteht in der Hauptsache aus Granula.

"Giant bodies" (Riesenkörperchen) nach PACHAS & CURRID (1974) können einen Durchmesser von 50 μm erreichen. Sie enthalten oft Cytoplasmaverdichtungen, die sich intensiv mit Dienes-Farblösung anfärben.

BUCHANAN & SCOTT (1984) und BUCHANAN et al. (1983) erwähnen "vesicles". Damit sind, nach dem Zusammenhang beurteilt, Zellen in der L-Form gemeint.

"Mesosomenähnliche Strukturen" nach GREEN et al. (1974 A) ähneln den Mesosomen der parentalen Bakterien. Dichtes fädiges Material, das von einer Membran begrenzt ist, läßt manchmal Körperchen von 0,07 μm Größe erkennen, die an eine Perlenkette erinnern. Mesosomenähnliche Strukturen können in Übergangsformen gefunden werden, nicht aber in nicht-revertierenden L-Formen. Die Stabilität von L-Formen wird mit Fehlen von "Mesosomen" (hier wahrscheinlich im Sinne von "mesosomenähnlich" zu verstehen) in Verbindung gebracht (RYTER & LANDMAN, 1964).

BIBEL & LAWSON (1972) bezeichnen Formen von 4 - 11 μm Durchmesser, die innen viele Vesikel haben, als "reif".

DIENES & WEINBERGER (1951) beschreiben zwei Kolonietypen: 3A und 3B (andere Autoren sprechen von A- und B-Kolonien). Der A-Typ ist 0,3 - 1 mm groß, serumbedürftig und ist von Anfang an stabil oder wird es nach kurzer Zeit. Der B-Typ ist größer (2 - 5 mm) und wächst ohne Serum, er schlägt noch nach zahlreichen Passagen in Penicillin-haltigen Medien in die parentale Form zurück. Im Gegensatz zum A-Typ hat er eine breitere Außenzone aus großen sphärischen Formen.

2.2.2. VORKOMMEN IN KLINISCHEM MATERIAL

L-Formen verschiedener Bakterienarten sind aus klinisch erkrankten Menschen isoliert worden. So findet GOLANOV (1986) L-Formen von Mykobakterien im Sputum aus ca. 30% von 326 Patienten mit destruktiver Lungentuberkulose (bei diesen Patienten können keine parentalen Formen nachgewiesen werden).

In vier von acht Fällen von Meningitis werden L-Formen oder Übergangsformen von *Haemophilus influenzae* isoliert. Dabei können in drei Fällen auch die elterlichen Formen festgestellt werden (MATTMAN & KARRIS, 1966).

L-Formen von *Strept. faecalis* werden aus Blut und Liquor bei subakuter bakterieller Endocarditis und Meningitis isoliert (MATTMAN, 1964). BEAMAN (1982) findet im Liquor eines Patienten während einer Steroidtherapie L-Formen von *N. asteroides*.

GUTMAN et al. (1965) isolieren aus 11 von 57 Urinproben von menschlichen Patienten mit chronischer Pyelonephritis L-Formen von *E.coli*, *Strept. faecalis*, *Klebsiella* spp. und *Prot. mirabilis*. Bei vier von neun Patienten kann während antimikrobieller Therapie L-Form Wachstum nachgewiesen werden, nach dem Absetzen des Medikaments wird die parentale Form im Urin gefunden (GUTMAN et al., 1965).

Bei einem jungen Mädchen, das an *Corynebacterium*-Endocarditis leidet, werden aus dem Blut parentale Bakterienformen isoliert, wenn Zeichen einer Infektion erkennbar sind (WITTLER, 1965). Während einer anschließenden Penicillintherapie werden nur Übergangsformen isoliert und die Patientin zeigt keine Symptome. Nach MATTMAN (1964) finden sich L-Formen in Patienten, bei denen Verdacht auf Septikämie besteht. Die beteiligten L-Formen sollen nicht unter Einfluß von Antibiotika entstehen. L-Formen können nach MATTMAN (1964) unter Umständen auch intrazellulär wachsen, wobei eine Beteiligung von Erythrozytenfaktoren diskutiert wird.

A. hordeovulneris (UCD 81-332-9) - aus Aszites eines Hundes isoliert - bildet spontan wandgeschädigte Filamente und Protoplasten in hyperosmolarem L-Medium (BUCHANAN & SCOTT, 1984). Eben solche

Formen werden auch direkt in Aszitesflüssigkeit ermittelt. Ein Hund mit idiopathischer Polyarthrititis weist in der Synovia, die während eines akuten Rückfalles untersucht worden ist, stabile L-Formen von *N. asteroides* UCD1-581 auf. Zu keinem anderen Zeitpunkt der Erkrankung können L-Formen oder andere Bakterien aus der Synovia isoliert werden. Stabile L-Formen werden aus dem Blut und verschiedenen Geweben zwischen den akuten Schüben der Krankheit dieses Hundes isoliert (BUCHANAN et al., 1983).

Bei Rindermastitis isolieren LITTLE & BOSBERRY (1973) wandgeschädigte oder wandlose Formen von *Staph. aureus* und anderen grampositiven Bakterien. McGEE et al. (1971) bestätigen dies auch bei anderen Infektionen. Nach Antibiotika-Behandlung einer Mastitis werden L-Nährböden mit Milchproben beimpft. Parentale Bakterienkolonien, Übergangsformen, Spiegelei- und granuläre Kolonien treten dabei nebeneinander auf. Nach einer einzigen Passage auf Blutagar können sie sich in die elterliche Form zurückverwandeln (SEARS et al., 1987).

BUXTON & PHILLIPS (1980) weisen bei zwölf klinisch gesunden Hühnern L-Formen von *Staphylokokken* spp. nach.

L-Formen können längere Zeit in Gewebekulturen oder der Peritonealhöhle persistieren (SCHMITT-SLOMSKA et al., 1966 und 1967). SCHMITT-SLOMSKA et al. (1966) beobachten stabile L-Formen von *A. Streptokokken* etwa sieben Monate lang in Antibiotika-freien menschlichen diploiden Embryonalzellen. In manchen Zeitabschnitten können sie keine L-Formen isolieren oder diese wachsen in atypischen Kolonien, die nicht subkultivierbar sind, obwohl der mikroskopische Nachweis gelingt. Zu anderen Zeitpunkten können sie subkultiviert und mit Immunofluoreszenz definiert werden. Diese L-Formen können neue Gewebezellen infizieren und lassen keinen cytopathischen Effekt erkennen. Dagegen berichtet KAGAN (1967) von L-Formen von *S. typhi* und *Streptokokken* spp., die zerstörend auf Zellkulturen wirken.

SCHMITT-SLOMSKA et al. (1967) gewinnen aus dem Blut und von der

Peritonealmembran von Mäusen noch 25 Tage nach einer intraperitonealen Injektion L-Formen von hämolysierenden Streptokokken. L-Formen von *N. asteroides* und *N. caviae* 112 entstehen spontan in Mäusen und sind an der Entstehung von Mycetomen beteiligt (BEAMAN, 1982; BEAMAN & SCATES, 1981). Auch L-Formen von Streptokokken können sich spontan in infizierten Tieren bilden (MORTIMER, 1965).

SMALL (1988) weist darauf hin, daß L-Formen in pharmazeutischen Produkten nur auf eigens dafür bestimmten Testmedien nachgewiesen werden können, übliche Testmedien versagen dabei. In zwei von acht geprüften, für die parenterale Verabreichung geeigneten Medikamenten werden L-Formen von *Staph. aureus* identifiziert.

2.2.3. MORPHOLOGIE

Morphologische Unterschiede zwischen L-Formen von sehr verschiedenen Bakterienarten bestehen kaum (COLE, 1971). L-Formen haben keine definierbare Größe oder Form (DIENES, 1968). Sie unterscheiden sich, je nach Art der Induktion in ihrer Größe und dem Grad des Zellwandverlustes (KOVALENKO & DOROZHKOVA, 1986).

Die grundlegende Morphologie von stabilen L-Formen ist relativ einheitlich (DIENES, 1968). Die Zellen sind hauptsächlich rund, obgleich unregelmäßige Formen besonders auf Agar-Kulturen vorkommen können. Sie sind nur von einer dreischichtigen Cytoplasmamembran umgeben.

Die Morphologie der L-Formen wird durch physikalische Eigenschaften der Nährmedien, dem Alter der Kultur, der Anzahl der Passagen einer Kultur und der angewandten Technik beeinflusst (HIJMANS et al., 1969). Zudem können der Nährstoffgehalt des Mediums, aber auch Einflüsse des Wirtes in vivo eine Rolle spielen.

2.3.1. Koloniemorphologie

L-Formen variieren innerhalb der Population bezüglich Zellteilung, metabolischer Aktivität und Zellalter (GUMPERT & TAUBENECK, 1983).

Aufgrund ihrer Plastizität können L-Formen in Agar-Fibrillen eindringen (DIENES, 1968; DIENES & BULLIVANT, 1967; RAZIN & OLIVER, 1961). Die physikalischen Parameter (bes. die Agarhärte und der Feuchtigkeitsgrad) beeinflussen die Koloniemorphologie (RAZIN & OLIVER, 1961). So können oberflächliche Kolonien und eingebettete Kolonien ohne oberflächliches Wachstum entstehen.

Nach PACHAS & CURRID (1974) finden sich bei normaler Osmolarität (= 0,9%ige Kochsalzlösung; nach RÖMPP, 1962) zwei Kolonietypen. Zum einen erscheinen ungleichmäßige Kolonien von zweigartigem Aussehen, bestehend aus leichten und schweren Granula und einigen oberflächlichen "large bodies", zum anderen sind Kolonien zu sehen, die fast ausschließlich aus "large bodies" bestehen. Der Kolonietyp ist abhängig vom Medium: So entsteht z.B. auf Agar mit 0,5% Kochsalz und 2% Pferdeserum als einziger Nährstoffquelle nur der granuläre Kolonietyp.

Auf festen Nährböden können L-Formen "Spiegelei"-Kolonieform ausbilden. Diese Kolonieform kennzeichnet ein dunkles, manchmal leicht erhabenes Zentrum, dessen Zellen in den Agar eindringen, und eine flache oberflächliche periphere Zone (HIJMANS et al., 1969). Das Zentrum der Kolonie besteht aus einer amorphen Ansammlung dicht gepackter Granula verschiedener Größe. Außen liegen große runde oder unregelmäßig geformte Gebilde verschiedener Dichte und Größe. Die Penicillin-induzierte, "relativ" stabile (McGEE et al., 1971) L-Form von *Strept. faecalis* bildet auf festem Nährboden Spiegelei-Kolonieform (GREEN et al., 1974 A). Viele Stämme von *Salmonella* spp. zeigen u.a. den 3A und den 3B Kolonietyp nach DIENES (MATTMAN & VAUGHAN, 1959). Die L-Kolonien von *Bac. subtilis* und *Bac. licheniformis* bestehen aus einem dichten Zentrum und heller Peripherie mit runden Zellen (WYRICK & ROGERS, 1973). L-Formen von STMC bilden meist erst nach 48 - 96 h

kleine Kolonien, die denen von Mycoplasmen stark ähneln (GERLACH, 1972). Nach Gram-Färbung sieht man rote kokkoide Elemente, die deutlich kleiner als Streptokokken sind.

L-Kolonien von *Pseudomonas aeruginosa* haben einen Durchmesser bis zu 2 mm und erscheinen unter der Agaroberfläche (EDMAN & MATTMAN, 1961). Alle Kulturen bilden dabei parentale Formen auf der Oberfläche. In den L-Kolonien sind verschiedene Stadien von L-Formen zu erkennen.

Die L-Kolonie von *N. asteroides* UCD 1-581 kann aus einer großen Zelle in der Mitte und kleineren runden Formen bestehen, die kettenförmig in den Agar dringen (BUCHANAN et al., 1983). In vielen Zellen erscheinen mineralische Ablagerungen.

L-Kolonien von Streptokokken setzen sich aus runden Gebilden (0,1 - 1,5 μm groß), polygonalen "large bodies" (10 - 30 μm groß), filamentartigen Strukturen (0,1 - 7 μm groß) und strukturloser Matrix zusammen (GULEVSKAYA et al., 1977). Im Laufe der Kolonieentwicklung ersetzen sich die einzelnen Formen.

In der lag-Phase von Streptokokken-Kulturen erscheinen rundliche Gebilde, während polygonale Formen mehr in jungen L-Kolonien auftreten. Filamentartige Formen können immer beobachtet werden (GULEVSKAYA et al., 1977). Die Zellen der lag- und der log-Phase bilden das direkte Zentrum der L-Kolonie, während die Peripherie in der Hauptsache aus Zellen der stationären Phase bestehen (WYRICK & ROGERS, 1973). In der lag-Phase und der stationären Phase dominieren "large bodies" ($>2 \mu\text{m}$), während mittelgroße Zellen (0,6 - 2 μm) und Elementarkörperchen ($<0,6 \mu\text{m}$) in der log-Phase die Mehrheit bilden (WYRICK & GOODER, 1971; WYRICK & ROGERS, 1973). Nach BIBEL & LAWSON (1972) treten in der späten log-Phase zahlreiche große Formen von 4 - 11 μm Größe auf.

2.2.3.2. Ultrastruktur

Die Ultrastruktur von L-Formen und Mycoplasmen ähneln sich, sind aber nicht identisch (DIENES & BULLIVANT, 1967; RYTER & LANDMAN, 1964), denn die L-Formen erscheinen noch stärker pleomorph. L-Formen und Mycoplasmen besitzen einen nicht begrenzten Kernbereich und ein Cytoplasma mit Ribosomen (ANDERSON, 1969). Die Ultrastruktur von *Strept. faecalis* (M-1) (GREEN et al., 1974 A) und anderer D-Streptokokken (CORFIELD & SMITH, 1968 und 1970) in der L-Form ist fast gleich. Es zeigen sich große Formen (4 - 11 μm) mit vielen Vesikeln und kleinere Formen mit wenigen oder keinen Vesikeln im Inneren. Diese großen Formen werden als "reife" Formen angesehen (BIBEL & LAWSON, 1972). Sie weisen eine Anhäufung von membranbegrenzten Vesikeln in einer Zone des Cytoplasmas auf, in einer anderen eine Anhäufung von Kernmaterial (GREEN et al., 1974 A). In einigen der Vesikel befinden sich Elementarkörperchen. Formen mit ein bis zwei Vesikeln erreichen eine Größe von 4 μm . Sie haben ein dichtes peripheres Cytoplasma und eine vergrößerte Kernregion (GREEN et al., 1974 A).

L-Formen von *Staph. aureus* 10033 sind mehr gewunden, haben mehr Kernmaterial als diejenigen von *Strept. faecalis* 962. Das Kernmaterial erscheint als diffuses Netzwerk dünner Fäden, während sich das Cytoplasma als grob granuliertes Material darstellt (SCHÖNFELD & BRUIJN, 1973).

Es besteht ein Zusammenhang von Wachstumsphase und Alter mit der Morphologie der Zelle (GREEN et al., 1974 A; WYRICK & ROGERS, 1973). Die Zusammenballung elektronendichten Materials wird als Kernmaterial gedeutet, seine Desintegration führt zu Zelltod. Diese Zusammenballung und die Bildung mesosomenähnlicher Strukturen wird als Altern und Tod, aber auch als Vorbereitung zur Reversion angesehen (GREEN et al., 1974 A). Vielleicht führt die Verminderung von Nährstoffen und die Anhäufung von toxischen Produkten im Medium zum Altern oder zur Reversion.

In der parentalen Form sind die Ribosomen kleiner und dichter gepackt als in der L-Form (SCHÖNFELD & BRUIJN, 1973). L-Formen von

Staph. aureus 10033 zeigen kristalline Gitterstrukturen im Cytoplasma (SCHÖNFELD & BRUIJN, 1973). Gitterstrukturen werden in Clostridium cochlearum (POPE et al., 1968) und in Bac. thuringiensis (NORRIS & PROCTOR, 1969) gefunden; die Autoren sehen darin einen Zusammenhang mit Phagenproduktion.

Eine Membran aus elektronenmikroskopisch abgrenzbaren Einheiten umschließt Staph. aureus 1033 und Strept. faecalis 962 in der L-Form. Sie enthält keine Wandreste (SCHÖNFELD & BRUIJN, 1973). Wenn man Membranen von Protoplasten und L-Formen von Bac. subtilis (GILPIN et al., 1973; LANDMAN & FORMAN, 1969) bei verschiedenen hohen Kochsalzkonzentrationen mittels Polyacrylamid-Gel-Elektrophorese vergleicht, ergeben sich Mengenunterschiede der Membranproteine. Da sich auch die Membrankomponenten von elterlicher und L-Form unterscheiden, wird daraus geschlossen, daß beim Übergang von vollbewandeter auf die L-Form die Membranproteine neu verteilt werden (GILPIN et al., 1973).

2.4. REPRODUKTION

Nach MADOFF et al. (1966) überleben und vermehren sich L-Formen in Form kleiner Granula.

Als Reproduktionsformen beobachten WYRICK & ROGERS (1973) Zellteilung, asymmetrische Teilung und Aussprossen in der späten lag- bzw. frühen log-Phase. Die Ausdehnung der Zelle zwischen Agarfibrillen eines festen Nährbodens mit anschließender Fragmentbildung wurde von DIENES (1968) und WYRICK & GOODER (1971) beobachtet. Diese Agarfibrillen beeinflussen offensichtlich die Teilungen, die mehr als zwei Tochterzellen hervorbringen (DIENES & BULLIVANT, 1967), und auch Knospungsprozesse (DIENES, 1968).

Allgemein haben L-Formen langsamere Wachstumsraten als parentale Formen (GUMPERT & TAUBENECK, 1983). In Flüssigmedium wachsen L-Kulturen zwei bis drei Mal langsamer als parentale Formen. Auch

die lag-Phase ist gegenüber der parentalen Form verlängert (HIJMANS et al., 1969).

Die stabile L-Form von *Bac. subtilis* 168 (sal-1) wächst und teilt sich logarithmisch in Flüssigmedium mit einer Generationszeit von 60 min (BEAMAN, 1982). Die mittlere Generationszeit von anderen Stämmen von *Bac. subtilis* oder *Bac. licheniformis* beträgt 60 bis 75 min in halbdefiniertem flüssigem Medium. Dies entspricht der ihrer elterlichen Ausgangsstämme in vergleichbarer Umgebung (WY-RICK & ROGERS, 1973).

Reproduktive Elemente sind nach mikroskopischen Studien ab einer Größe von 0,6 - 0,7 μm zu erwarten (DIENES, 1968). Treten bei unregelmäßigen Teilungsprodukten Formen unter 0,5 μm auf, so scheinen sich diese nicht vermehren zu können (HIJMANS et al., 1969). Diese kleinen Teilchen können sich nur weiterentwickeln, wenn sie in engem Kontakt zu anderen Zellen der Kolonie stehen. Solche kleinen Elemente könnten jenen entsprechen, die DIENES (DIENES & BULLIVANT, 1968; DIENES et al., 1968) als kurze Ketten oder Filamentteile in Verbindung mit großen Formen beschreibt. Möglicherweise entsprechen diese den Strukturen bei GREEN et al. (1974 A). Die Autoren diskutieren, daß allein nicht lebensfähige Elementarkörperchen in einem Vesikel oder in engem Kontakt zur Mutterform heranreifen können. Nach HIJMANS et al. (1969) entwickeln und vermehren sich kleine Elementarkörperchen innerhalb von "large bodies". Diese desintegrieren und setzen Elementarkörperchen frei, welche sich entweder vermehren oder wieder zu "large bodies" auswachsen. DIENES (1967) und DIENES & MADOFF (1966) nehmen an, daß Elementarkörperchen sich in Flüssigmedien nicht weiterentwickeln können. Sie vermuten, daß sie nur auf festen Medien wachsen können.

Durch Vergrößerung von Protoplasten entstandene große Zellen vermehren sich durch Zerfall in mehrere Teile (DIENES & BULLIVANT, 1967).

2.5. INDUKTION

Die Induktion, der Übergang von elterlicher Bakterien-Form in die L-Form, wird beeinflusst durch Art und Stamm sowie den Umweltbedingungen (HIJMANS et al., 1969).

Die Induktion umfaßt folgende Schritte:

- Verschwinden der Mureinstruktur
- Verhinderung osmotischer Lyse
- Vermehrung in der L-Form als Beweis der Lebensfähigkeit.

Bakterienstämme, die eine niedrige Virulenz aufweisen, scheinen sich in vivo schneller in L-Formen umzuwandeln als stärker virulente Bakterien (MORTIMER, 1965). Bereits von L-Formen revertierte Bakterien dürften L-Formen in vitro (FREIMER et al., 1959; ROBERTS & WITTLER, 1966) und in vivo (MORTIMER, 1965) schneller bilden als Bakterien, die sich noch nie aus der L-Form zurückgewandelt haben.

Die Bedingungen der L-Form-Induktion sind bisher nur beispielhaft für bestimmte Bakterienspezies bzw. nur für einzelne Stämme einer Art untersucht worden. Es scheint auch so zu sein, daß sich ein Stamm zunächst nicht vollständig in seine L-Form umwandelt, sondern nur teilweise, und das auch nicht in reproduzierbarer Menge (DALTON et al., 1971; BRORSON et al., 1973). Nachstehend werden einige Experimente aufgeführt, bei denen eine L-Form-Induktion gelungen ist.

Die Wahl des osmotischen Stabilisators ist wichtig. Grampositive Bakterien, wie Streptokokken benötigen einen hohen Kochsalzanteil im Medium (CRAWFORD et al., 1958). Sind Stämme von hämolysierenden Streptokokken auf ein Wachstum in 6%iger Kochsalzlösung adaptiert, können L-Formen bei sieben von neun Stämmen induziert werden (vor der Adaptierung nur vier von neun Stämmen) (FREIMER et al., 1959). Gramnegative Bakterien können oft mit der üblichen Kochsalzkonzentration von 0,5% induziert werden, die Anhebung derselben erleichtert aber die Induktion (LANDMAN et al., 1958).

Proteus spp. weisen die Besonderheit auf, bei niedrigen Kochsalzgehalten im Medium fast nur 3A-Kolonien zu induzieren und mit 2% Kochsalzgehalt fast nur 3B-Kolonien (KANDLER & KANDLER, 1956).

PACHAS & CURRID (1974) untersuchen einen elterlichen (A-Stamm) und einen revertierten Stamm (R-Stamm) von *Er. rhusiopathiae* auf ihre Fähigkeit, L-Formen unter Penicillin-Einfluß zu bilden. Auf festem Nährboden entstehen L-Formen bei einer Osmolarität von 0,85 - 5% Kochsalzgehalt (A-Stamm) und 0,5 - 3% Kochsalzgehalt (R-Stamm). MADOFF et al. (1967) ermitteln für diesen A-Stamm L-Form-Bildung bei einer Osmolarität von 0,5% Kochsalzgehalt. Ohne Penicillin ergibt sich für den R-Stamm eine optimale Salzkonzentration bei 2% für L-Form-Wachstum (>3% tritt kein Wachstum mehr in der parentalen Form auf, L-Form-Wachstum wird nicht begünstigt). Bei dem A-Stamm zeigen sich gelegentlich L-Formen bei 3% (bei 4% werden die parentalen Formen nicht behindert).

ROBERTS (1966) kann L-Formen aus *Neisseria gonorrhoeae* mit Saccharose induzieren, DIENES et al., (1964) aber nicht mit Kochsalzzugabe zum Medium. Niedrige Magnesiumkonzentrationen können die Zellmembran von Protoplasten gegen osmotische und mechanische Einflüsse widerstandsfähiger machen (McQUILLEN, 1958).

Die spontane L-Form-Bildung vieler Bakterienarten ist von geeigneten Nährböden abhängig (KAGAN, 1963; MATTMAN et al., 1961). Für *A. hordeovulneris* ATCC 35275 (UCD 81-322-9) ist z.B. hypertonisches Medium ausschlaggebend (BUCHANAN & SCOTT, 1984). PACHAS & CURRID (1974) beschreiben für *Er. rhusiopathiae* hyperosmotisches Medium. Der Bakterienkörper bildet Filamente, die polare oder zentrale Anschwellungen aufweisen, aus denen über Fragmente Granula mit nachfolgendem L-Wachstum hervorgehen. Es besteht auch die Möglichkeit, daß das Bakterium insgesamt anschwillt und einen "large body" bildet. Zwei solcher "large bodies" können fusionieren und anschließend Granula bilden, aus welchen sich wieder L-Kolonien entwickeln.

Eine Mutante von *E.coli*, die keine DAP produzieren kann, bildet in Medien ohne DAP bei osmotischem Schutz L-Formen (LEDERBERG & ST. CLAIR, 1958) und Sphäroplasten (McQUILLEN, 1958). Wird DAP wieder zugegeben, revertiert diese Mutante zur parentalen Form zurück.

L-Formen adaptieren sich an veränderte Nährstoffgehalte. So können L-Formen von *Staph. aureus* spontan entstehen, wenn die gegebenen Nährstoffe für die elterliche Form nicht ausreichen. MATTMAN et al. (1961) führen Versuche mit Nicotinamid-, Thiamin-, Pyridoxin-, Biotin- und Uracil-Zusätzen im Medium durch. Wegnahme eines essentiellen Nährstoffes unterbricht die Zellwandsynthese (MUSCHEL, 1968).

L-Formen entwickeln sich unter bestimmten Bedingungen, wie sie nach Antibiotikaeinwirkung und/oder durch Wirkung von Antikörpern auftreten (BUXTON & PHILLIPS, 1980). ROBERTS (1967) beschreibt eine Vielzahl von Antibiotika, die L-Formen erzeugen können.

Die Synthese des Mureins kann bei verschiedenen Schritten durch Antibiotika behindert werden (STROMINGER et al., 1967). WEIDEL & PELZER führen 1964 den Begriff "Murein" für das Biopolymer ein, welches die Starrheit der Bakterienwand bedingt. D-Cycloserin beeinträchtigt die Bildung des Alanin-Alanin-Dipeptids. Ristocetin und Vancomycin behindern die Ausnützung der Lipid-Intermediaten. Penicillin verhindert die Vernetzung zwischen den Peptidketten des Mureins (STROMINGER et al., 1967).

Der Zeitpunkt in der Wachstumsphase, in dem Penicillin einer Kultur zugegeben wird, wirkt sich auf den Induktionserfolg aus: Zugabe von Penicillin in der stationären Phase von *Proteus* liefert eine größere L-Form Ausbeute als die Zugabe des Antibiotikums in der log-Phase (KANDLER & KANDLER, 1956).

Wirkt Penicillin auf einige Staphylokokken-Spezies ein, bilden sich wanddefekte Formen, die Vorläufer des Mureins ins Medium abgeben können (STROMINGER et al., 1967). Die Penicillin-induzierte Umwandlung von elterlicher Form in die L-Form beschreiben PACHAS

& CURRID (1974) bei *Er. rhusiopathiae* folgendermaßen: Der Teilungsvorgang verlangsamt sich und sistiert nach 3 h. Rosenkranz-ähnliche Umbildung des Bakteriums läßt durch Fragmentbildung Granula entstehen. Die Granula dehnen sich in den Agar hinein aus. Nach 24 h liegt eine zentrale Wachstumszone aus leichten und schweren Granula im Agar vor. Peripher finden sich schwere Granula und "large bodies". Nach drei bis vier Tagen entstehen L-Kolonien in der Spiegeleiform. In der Subkultur geht das Wachstum von den Granula und "large bodies" aus.

Stämme von *Staph. aureus* variieren in ihrer Fähigkeit, L-Formen in Gegenwart zellwandsynthesehemmender Antibiotika, z.B. Methicillin (DALTON et al., 1971) und spontan ohne Antibiotikazugabe (BRORSON et al., 1973 und Preprint) zu bilden. Die Anzahl der durch Methicillin induzierten L-Formen schwankt bei wiederholten Untersuchungen.

Von 14 untersuchten Stämmen von *Staph. aureus* zeigen sieben spontane L-Formbildung, außerdem bilden diese Stämme L-Kolonien bei 1,0 - 1,5%iger Kochsalzlösung mit Methicillin auf festem Nährboden. Dagegen benötigen andere Stämme höhere Kochsalzkonzentrationen. BRORSON et al. (Preprint) beobachten bei sechs von diesen sieben Stämmen eine hohe Rate der L-Formbildung in Gegenwart von Methicillin. Die Produktion von L-Formen bei *Staph. aureus* Stämmen in Gegenwart von Methicillin wird mit dem Phagentyp in Zusammenhang gebracht (DALTON et al., 1971). 258 Stämme von *Staph. aureus* können L-Formen produzieren. Stämme des Phagentyps 7 bilden L-Formen in größerem Ausmaß und mit höherer Wahrscheinlichkeit als solche vom Phagentyp 80/81 (DALTON et al., 1971).

Spontane L-Formbildung von *Staph. aureus* erreichen BRORSON et al. (1973) bei zwei Stämmen von Phagengruppe 1, bei zwei von Gruppe 3 und bei zwei nicht typisierbaren Stämmen.

Von fünf Kühen, die mit *Staph. aureus* (ATCC29740) infiziert und mit Cloxacillin behandelt worden sind, können aus drei Eutervierteln von zwei Kühen instabile L-Formen dieses Keimes isoliert

werden (SEARS et al., 1987). Die Autoren beschreiben diese L-Formen in 80% der untersuchten Milchproben (N = 66), nachdem Routinenährböden 7 - 30 Tage ohne Wachstum geblieben sind.

134 Isolate von *Salmonella* spp. der O-Gruppen A, B, C1, C2, und E1 lassen sich mit Penicillin induzieren (MATTMAN & VAUGHAN, 1959). Die dazu benötigte Penicillinkonzentration variiert. Dabei zeigen Isolate von Ausscheidern oder Erkrankten keine bedeutenden Unterschiede.

Pseudomonas-aeruginosa-L-Formen können durch Polymyxin B und Dihydrostreptomycin induziert werden (EDMAN & MATTMAN, 1961).

L-Formen von *S. typhimurium*, *Prot. mirabilis*, *E.coli*, *Strept. faecalis* und *Staph. aureus* entstehen unter Einfluß von Penicillinen, Tetracyclinen oder Cephalotin in der Peritonealhöhle von Mäusen (GODZESKI et al., 1967). Diese L-Formen können länger als vier Wochen aus Milz, Niere, Leber und Lunge isoliert werden.

Unter dem Einfluß von Antibiotika, aktiver oder passiver Immunität oder unspezifischen Gewebefaktoren entstehen im Peritoneum von Versuchstieren spontan Sphäroplasten, L-Formen oder Übergangsformen (CAREY et al., 1960).

DIENES (1950) beschreibt den induzierenden Effekt von Antiserum und Komplement bei *S. typhi*.

Lysozym, Leukozyim, saure Phosphatase und Phospholipase erzeugen in vitro wanddefekte Formen von grampositiven (McQUILLEN, 1960), einschließlich der säurefesten Bakterien (WILLETT & THACORE, 1967) und gramnegativen Bakterien (AMANO et al., 1956).

Lysozym hydrolysiert den Peptidoglycan-Anteil der Wand. Dabei entstehen z.B. Protoplasten von *Bac. megaterium* (FODOR et al., 1975; HADLACZKY et al., 1976).

Die Entstehung von L-Formen aus grampositiven Bakterien durch Ly-

sozym mit osmotischer Stabilisierung wird mehrfach beschrieben (KING & GOODER, 1970 A und B; LANDMAN et al., 1968). Viele der daraus resultierenden L-Formen von *Bac. subtilis* und *Bac. licheniformis* sind instabil und können durch Subkultivierung in methicillinhaltiger Umgebung in die stabile Form überführt werden (WYRICK & ROGERS, 1973). Stabile L-Formen von *Bac. subtilis* 168 entstehen nach Behandlung der elterlichen Form mit N-Nitrosoguanidin und Lysozym (YOUNG et al., 1970). Lysozyminduzierte Zellen behalten oft ihre ursprüngliche Morphologie, sind aber osmotisch empfindlicher als ihre elterliche Form und bilden sich häufig zu Sphäroplasten um (BIRDSELL & COTA-ROBLES, 1967). Kombinierte Einwirkung von Lysozym und EDTA läßt Protoplasten entstehen (BIRDSELL & COTA-ROBLES, 1967).

Die Dauer der Lysostaphin-Wirkung auf *Staph. aureus* FDA 209P äußert sich zunächst in einem hohen Anteil an osmotisch empfindlichen Zellen. Viele von diesen können jedoch wieder revertieren. Die osmotische Empfindlichkeit resultiert wahrscheinlich aus der Hydrolyse eines hohen Anteils von Penta-Peptid-Verbindungen des Mureins. Nach längerer Einwirkung erscheinen Löcher in der Zellwand. Diese trennt sich von der Cytoplasmamembran. Die resultierenden Zellen können nicht revertieren, sind ebenfalls osmotisch anfällig und behalten Wandreste. Nach noch längerer Einwirkung lassen sich keine Wandreste mehr feststellen. Die induzierten Zellen sind morphologisch keine typischen L-Formen (SCHUHARDT et al., 1969).

Gibt man dem Medium 0,5 - 5% Glycin zu, wirkt es z.B. auf *Salmonella* spp. induktiv (DIENES et al., 1950). Glycin wird wahrscheinlich in der Muraminsäure an Stelle von L-Alanin substituiert (STROMINGER & BIRGE, 1965). Glycin, das A-Streptokokken nicht zur L-Form induzieren kann, steigert aber die induzierende Wirkung von Penicillin. Ähnliche Ergebnisse ergeben sich für Serin, Threonin, Methionin und Alanin. Das D-Isomer erweist sich in den meisten Fällen als wirkungsvoller, als das L-Isomer (MICHEL & HIJMANS, 1960). D-Aminosäuren behindern die Transpeptidation,

durch welche die Vernetzung zwischen den Peptidketten des Mureins beendet wird (STROMINGER et al., 1967).

Gewebefaktoren, wie Aminosäuren oder Lysozym, die alleine oder zusammen mit anderen Enzymen oder Antibiotika einwirken, erzeugen in vitro L-Formen (MICHEL & HIJMANS, 1960; GHOSH & MURRAY, 1967; WILLETT & THACORE, 1967). Im Verlauf bestimmter Infektionen (OSSERMAN & LAWLOR, 1966, beziehen sich auf Leukämien) erreichen die Lysozymkonzentrationen in Serum und Urin Werte, welche denen entsprechen, die L-Formen im Experiment erzeugen (McQUILLEN, 1960). Das Nierenmark gewährleistet eine hypertonische Umgebung, die manche wanddefekte Form stabilisieren kann. Penicillin und eine Reihe anderer Antibiotika können in der Niere angereichert werden (McGEE & WITTLER, 1969). Daher können Bakterien sich zu L-Formen umwandeln, wenn sie in Körperflüssigkeiten wie Blut und Urin gelangen (GUTMAN et al., 1965).

LEVINA et al. (1983) infizieren die Lederzecke *Ornithodoros moubata* mit der parentalen Form von *L. monocytogenes* und *S. typhimurium*. Es werden sowohl elterliche als auch instabile L-Formen ausgeschieden. Diese Ausscheidung wird bis über ein Jahr beobachtet.

WHITE et al. (1981) berichten über Transformation mittels freier Phagen-DNS für Protoplasten und L-Formen von *Bac. subtilis*. PEG vermag evtl. eine direkte Aufnahme von Phagenpartikeln durch Phagozytose zu fördern oder Phagen dringen während eines Fusionsprozesses ein (GUMPERT et al., 1986). 6 von 14 Phagenstämmen, die für die parentale Form von *Bac. subtilis* 170 und 1997 virulent sind, transponieren übertragbare produktive Lysis auf stabile L-Formen vom Protoplasttyp. Die meisten dieser 6 Phagenstämme zeigen eine Morphologie, die für die kleinste Form charakteristisch ist. Rezeptoren scheinen für bestimmte Phagen auf der Cytoplasmamembran von vielen grampositiven, aber nicht von gramnegativen Bakterien vorhanden zu sein. Die L-Formzellen besitzen mehrere Adsorptionsstellen für Phagen (GUMPERT et al., 1986). Stabile L-

Formen von *Brucella suis* (Biotyp 1) adsorbieren den Bakteriophagen Weybridge zu 60%, die parentale Form zu 90% unter gleichen Bedingungen (SCHMITT-SLOMSKA et al., 1982). Nach GUMPERT et al. (1986) findet die Infektion der L-Formzellen durch einen Adsorptions-Injektions-Prozess statt und nicht durch endozytotisches Aufnehmen von Phagenpartikeln oder Transformation via freie Phagen-DNS.

Von Phagen gebildetes Lysin kann L-Formen von A-Streptokokken induzieren (MAXED, 1968). Der Autor verwendet das bei der Vermehrung von virulenten Phagen gebildete Lysin.

2.2.6. REVERSION

Die Bedingungen für die Reversion unterscheiden sich bei verschiedenen Stämmen (HIJMANS et al., 1969). Bei der Reversion sind gleichzeitig verschiedene Umwandlungsstadien der einzelnen Zellen einer Kolonie zu erkennen (SCHÖNFELD & BRUIJN, 1973). Oft revertieren Bakterien leichter kurz nach ihrer Induktion zur L-Form als nach einigen Passagen in der L-Form (HIJMANS et al., 1969). Umgekehrt lassen sich revertierte Bakterienstämme leichter zur L-Form induzieren. Die Reversionsrate erhöht sich, wenn der parentale Stamm, z.B. von *Staph. aureus* 10033, gegen Tyrothricin oder Neomycin resistent gemacht worden ist, bevor er in die L-Form transformiert wird (SCHÖNFELD & BRUIJN, 1973).

Bei revertierenden Zellen, die viele Passagen in der L-Form durchgemacht haben, sind die Zwischenstadien erheblich länger als bei solchen mit wenigen Passagen (SCHÖNFELD & BRUIJN, 1973). Die mehrmalige Subkultivierung von Staphylokokken in der L-Form fördert in starkem Maße die Vermehrung von L-Formen und nachfolgend ihre Umwandlung in die elterliche Form (BUXTON & PHILLIPS, 1980). SCHMITT-SLOMSKA et al. (1967) beobachten unter experimentellen Bedingungen, daß die Reversion von Streptokokken in der L-Form nur nach wiederholter Subkultivierung möglich ist. L-Formen von

Strept. faecalis mit spiegeleiförmiger Kolonie revertieren bei Belassen auf Agar ohne Transfer sporadisch nach vier bis 14 Tagen (GREEN et al., 1974 A). Die Kolonien der revertierten Formen befinden sich in enger Nachbarschaft zur ursprünglichen L-Kolonie, da die Reversionen vom Kolonierand ausgehen. Reversion von *Staph. aureus* ist noch nach 280 Passagen in der L-Form möglich, aber bei *Strept. faecalis* kann schon nach 30 Passagen keine Umwandlung mehr beobachtet werden (SCHÖNFELD & BRUIJN, 1973). Nach Zufügen von Penicillinase werden die ersten vollständig revertierten Staphylokokken nach 20 h gefunden, diejenigen der Streptokokken aber erst nach 30 h (SCHÖNFELD & BRUIJN, 1973).

In Kulturen von menschlichen embryonalen Nierenzellen brauchen L-Formen von Staphylokokken eine Reversionszeit von vier bis 63 Tagen (GREEN et al., 1974 B). Die Umwandlung der L-Form von Staphylokokken in die parentale Form dauert bei Staphylokokken aus Blut ca. 15 - 17 Tage, aus Dotter ca. 23 - 28 Tage (BUXTON & PHILLIPS, 1980), in einem Fall ist bei Material aus Dotter nach 80 Tagen noch keine Umwandlung zu beobachten. Es sind L-Formen von verschiedener Größe und Morphologie zu sehen. Aus kokkoiden Elementen von Staphylokokken, die nicht auf Routinenährböden wachsen, entwickeln sich nach und nach grampositive Kokken. Erstes Wachstum auf Blutagarplatten zeigt sich in ausgedehnten Populationen von verschieden großen Einzelorganismen. Nach weiterer Subkultivierung ändert sich die Wachstumsform schnell in grampositive Einzelkokken von gleicher Größe (BUXTON & PHILLIPS, 1980).

L-Kolonien von STMC lassen sich meist von Spezialnährmedien auf Blutplatten übertragen. Sie wachsen hier bei Bebrütung in einer feuchten Kammer zu feinen tautropfenartigen Kolonien aus (GERLACH, 1972). Diese Kolonien bestehen immer noch aus kokkoiden Elementen. Erst nach zwei bis drei Passagen sind "normal" aussehende Salmonellen zu erkennen.

L-Formen, die in vitro nicht revertieren, wandeln sich in vivo zur pathogenen elterlichen Form um, z.B. *E.coli* und ein Stamm von

Klebsiella nach Injektion ins Nierenmark von Ratten (WINTERBAUER et al., 1967). Wird die stabile L-Form von *L. monocytogenes* in Lederzecken (*Ornithodoros moubata*) injiziert, so erfolgt im Zeckenorganismus eine Reversion in die parentale Form (LEVINA et al., 1983). Gleichzeitig werden aber auch weiterhin L-Formen nachgewiesen.

Revertierende Bakterien enthalten elektronendichte, runde Gebilde aus Kern- und Cytoplasmamaterial, welche sich abtrennen und in bewandete Kokken umwandeln. Sie treten weder in L-Formen noch in parentalen Formen auf. Diese Beobachtungen beziehen sich auf *Staph. aureus* 10033 und *Strept. faecalis* 962, die aus klinischem Material isoliert und deren L-Formen Penicillin-induziert gewesen sind (SCHÖNFELD & BRUIJN, 1973). Weiter berichten die Autoren, daß durch den Einfluß von Penicillinase das Cytoplasma dichter wird, der Kernbereich sich zusammenzieht, indem er rund oder oval wird, und seine Innenstruktur fädig erscheint. Die Wand ist manchmal erst nach einigen Teilungen vervollständigt (SCHÖNFELD & BRUIJN, 1973). CORFIELD & SMITH (1970) beschreiben ebenfalls elektronendichte Kugeln in Kokken, die aber von ihnen nicht als Zwischenstadien angesehen werden und sich auch nicht abtrennen. Im Prozess der Reversion von *Bacillus* spp. entsteht zunächst eine dünne Schicht von elektronendichtem Material außerhalb der Cytoplasmamembran um eine runde L-Form (WYRICK & ROGERS, 1973). Die elektronendichte Schicht verdickt sich, während die Zelle eine unregelmäßige oder verlängerte Form annimmt. Schließlich entsteht die Stäbchenform mit voller Wandausstattung. Die Ergebnisse der morphologischen Studien der Reversion von instabilen L-Formen innerhalb des Genus *Bacillus* scheinen sich weitgehend zu gleichen (LANDMAN et al., 1968; WYRICK & ROGERS, 1973).

Bei der Reversion von *Bac. megaterium*-Protoplasten wird unterschieden:

- das Stadium der Vergrößerung des Einzelprotoplasten in den ersten Stunden (KUSAKA, 1967)
- ungeordnete Teilung nach ca. 12 h

- schließlich die Bildung von Stäbchenformen nach 18 bis 24 h (HADLACZKY et al., 1976).

Nach einer oder mehreren Teilungen lassen sich bereits Stäbchen erkennen. Die elterliche Form erscheint schon nach wenigen Teilungen des Protoplasten, wenn dieser der frühen log-Phase der Bakterienvermehrung entstammt und ausreichend Sauerstoff vorhanden ist. Gelegentlich entsteht eine morulaähnliche Struktur im Teilungsvorgang, in der sich jeder Tochterprotoplast in Stäbchenform umwandelt (HADLACZKY et al., 1976). In dichten Ansammlungen von Protoplasten entstehen jedoch verschieden geformte Teilungsprodukte. Stäbchen sind erst später zu erkennen. Das unterschiedliche Verhalten der Protoplasten ist wahrscheinlich auf Faktoren der Umgebung zurückzuführen, wie Sauerstoffangebot (Bac. megaterium ist streng aerob), Osmolarität, eventuell (hier nicht nachgewiesene) Wandreste - d.h. Peptidoglycanreste. In einigen Experimenten wird mit 0,1 und 0,15 molarer Saccharose-Lösung schnellere Reversion erreicht. Bei 0,2 und 0,25 molarer Lösung dauert der Teilungsvorgang länger (HADLACZKY et al., 1976). Protoplasten und L-Formen von Bac. subtilis revertieren in Medien mit 25% Gelatine (LANDMAN & FORMAN, 1969, LANDMAN et al., 1968; MILLER et al., 1968). Protoplasten aus Minimalnährmedien revertieren fast synchron drei bis vier Stunden nach Inokulation in gelatinehaltiges Medium (LANDMAN & FORMAN, 1969), die Reversion von Bac.-megaterium-Protoplasten wird dadurch jedoch nicht gefördert (FODOR et al., 1975).

Physikalische Eigenschaften können das Zellwandwachstum begünstigen, so auch mechanische Interaktion zwischen den Agarfibrillen des Nährbodens und L-Formen (LANDMAN, 1968).

Die Antibiotikaempfindlichkeit von Ausgangsstamm und revertierter Form ist häufig unterschiedlich. Die parentale Form von Staph. aureus (ATCC 29740) ist für Penicillin und Ampicillin deutlich stärker empfindlich als der gleiche, aber revertierte Stamm (SEARS et al., 1987). Bei Prüfung von Cephalosporin, Erythromycin, Gentamycin, Novobiocin, Streptomycin und Clindamycin ist

kein Unterschied festzustellen. Dagegen können bei Chloramphenicol, Cloxacillin, Neomycin, Tetracyclinen und Vancomycin geringe Unterschiede aufgezeigt werden (SEARS et al., 1987).

18 Stämme von Staph. aureus, die ursprünglich Koagulase-negativ sind, verhalten sich nach der Reversion zu 72% Koagulase-positiv. 39 Koagulase-positive Stämme behalten diese Eigenschaft auch nach der Reversion (TUNSTALL & MATTMAN, 1964). Die Autoren erwägen Bakteriophagentätigkeit als Ursache der geschilderten Änderungen.

Akute Krankheitsschübe bei chronischen Erkrankungen können damit in Zusammenhang gebracht werden, daß der Erreger nach einiger Zeit aus der L-Form in die parentale Form mit ursprünglicher Pathogenität revertiert (SHARP, 1970).

2.2.7. IDENTIFIKATION

Eine zweifelsfreie Bestimmung der Spezieszugehörigkeit einer L-Form ist nur durch Reversion möglich. WITTLER et al. (1968) beschreiben spezifische immunologische und molekulargenetische Techniken zum Nachweis der Zugehörigkeit von L-Formen zu bestimmten Bakterienspezies. Die Autoren empfehlen folgendes Vorgehen:

- Bestimmung der DNS-Basenzusammensetzung
- Vergleich derselben mit Angaben in der Literatur für in Frage kommende Spezies
- Ergänzung mit biochemischen Reaktionen
- serologische Prüfung durch Komplementfixation, Immunodiffusion, fluoreszierende Antikörper o.ä., Analyse von extrazellulären Produkten, wie Proteinen oder Enzymen.

Allerdings finden DIENES et al. (1950) Anhaltspunkte für eine relative Antigendefizienz der L-Formen bei zwei von drei Proteusstämmen. WEIBULL et al. (1967) zeigen eine enge serologische Relation bei zwei von drei Proteusstämmen und ihren L-Formen. So-

wohl die L-Form als auch die elterliche Form von *Haemophilus influenzae* wird mit fluoreszierenden Antikörpern erkannt (MATTMAN & KARRIS, 1966).

L-Formen von Mykobakterien behalten ihre speziesspezifischen und genusspezifischen Determinanten, wie KOVALENKO & DOROZHKOVA (1986) mit der Komplementbindung und Immunofluoreszenz nachweisen können. Mit spezifischen Antiseren für L-Formen von Mykobakterien kann eine indirekte Immunofluoreszenz durchgeführt werden. ISHANOVA et al. (1986) berichten über zwei stabile L-Kulturen von *Brucella* spp. aus Herden mit chronischer Brucellose, die sie mit experimentell erzeugten L-Formen vergleichen. Die L-Kulturen zeigen sich identisch bezüglich der Immunogenität für Meerschweinchen, weisen aber verschiedene biochemische Eigenschaften und unterschiedliche Immunodiffusionslinien im Agargel auf.

Durch Infektion von Kaninchen mit *M.-tuberculosis*-Sphäroplasten wird Antiserum gewonnen und an Fluoreszin gekoppelt (GARVIN & MATTMAN, 1967). In 7% der Patienten, die gegen Lungen-Tbc eine Chemotherapie erhalten haben, können Isolate von wandgeschädigten Bakterien (*M. tuberculosis*) mittels dieser spezifischen, fluoreszierenden Antikörper identifiziert werden (GARVIN & MATTMAN, 1967). Proben mit vielen parentalen Bakterien zeigen wenig oder gar keine L-Formen, wie auch umgekehrt (GARVIN & MATTMAN, 1967).

L-Formen können in einigen Fällen Endotoxin bilden, Phagen adsorbieren und Zellwandantigene bilden (HIJMANS et al., 1969). Sie können theoretisch die gleichen Toxine wie ihre parentale Form bilden (HIJMANS et al., 1969). Viele Fähigkeiten von Bakterien sind membrangebunden. Also ist zu erwarten, daß L-Formen die gleichen Kapazitäten besitzen (HIJMANS et al., 1969). Daher haben viele L-Formen gleiche oder reduzierte Stoffwechsel- und Synthesevorgänge wie die elterliche Form.

Verglichen mit der elterlichen Form ist die Energieausbeute der Oxidation bei stabilen L-Formen von *Proteus* um die Hälfte vermindert (KANDLER et al., 1956).

WEIBULL et al. (1967) finden bei Stämmen von *Prot. mirabilis* in

den Membranen der parentalen und der L-Form Succinyl-Dehydrogenase-Aktivität. Die stabile L-Form von *S. paratyphi* B bildet 7mal weniger Endotoxin als die parentale Form (DASINGER & SUTER, 1962), die stabile L-Form von *Proteus* ebenfalls (WEIBULL et al., 1967). Die L-Form eines Stammes von *Proteus* kann im Gegensatz zu ihrer elterlichen Form keine Urease bilden und keine Gelatine verflüssigen (KANDLER & KANDLER, 1955). L-Formen von Streptokokken können M-Protein bilden und ins Medium abgeben (GOODER & MAXED, 1961). Ein Stamm von A-Streptokokken kann in der L-Form kapsuläre Polysaccharide produzieren (MORTIMER & VASTINE, 1967).

Bei der Filtration durch bakteriendichte Filter wird die Zahl der reproduktiven Elemente einer Probe vor und nach dem Filtrieren durch verschiedene Porengrößen beurteilt (BOVEN et al., 1968). Die kleinsten Poren, die reproduktive Einheiten verschiedener Bakterien durchlassen, haben einen Durchmesser von 0,22 - 0,5 μ m (BOVEN et al., 1968; MORTIMER, 1965). Andererseits kann L-Wachstum von Streptokokken noch nach Passage durch Poren von 0,1 - 0,22 μ m Durchmesser beobachtet werden (BOVEN et al., 1968). Die Plastizität der L-Formen erlaubt den Durchtritt durch Poren, die kleiner sind als die mikroskopisch festgestellten Abmessungen des Zelleibes (HIJMANS et al., 1969). Wenn die L-Formen Filterporen durchwachsen, ist ihre Deformierbarkeit noch größer als beim schnellen Filtriervorgang.

Differenzialdiagnostisch müssen Pseudokolonien von L-Kolonien unterschieden werden. DIENES Farblösung (MADOFF, 1960) gestattet, lebensfähige L-Formen von anderem Material oder Pseudokolonien zu unterscheiden. Pseudokolonien können sich aus Bestandteilen des Mediums bilden. So sind granuläre Strukturen in der Lage, sich radiär oder unregelmäßig anzuordnen (HAYFLICK, 1965). Pseudokolonien solcher Art entstehen in der Regel bei hohen Serum oder Aszites Gehalten und bei 37° C Bebrütungstemperatur. Im allgemeinen wird ihre Entstehung durch den Inokulationsvorgang selbst begünstigt (HIJMANS et al., 1969). Austrocknung des Mediums wirkt ebenfalls begünstigend (OTTO, 1967). Die chemische Zusammen-

setzung der Pseudokolonien variiert: Luftblasen, Kondenswassertropfchen, Zellen und Zellaggregate können L-Kolonien vortäuschen (HAYFLICK, 1965).

Die L-Kolonien von *N. asteroides* UCD 1-581 weisen Ähnlichkeit mit Pseudokolonien auf, wie sie durch Pferdeserum entstehen können (BUCHANAN et al., 1983). Durch das Pferdeserum können sich Magnesium- oder Kalzium-Cholesterate bilden.

2.2.8. KULTUR

L-Kulturen in Flüssigmedium lassen keine Trübung erkennen. Sie bilden meist ein Sediment aus kleineren und größeren Klumpen und Granula (PACHAS & CURRID, 1974; HIJMANS et al., 1969). Eine optimale Ausbeute der Kultur erhalten PACHAS & CURRID (1974) nach sieben bis zehn Tagen. L-Kulturen in Flüssigmedium zeigen ein merkliches Ansteigen der Wachstumsaktivität zwei Tage nach dem Zufügen von frischem Medium. Anschließend ist ein Absinken der Wachstumsaktivität zu beobachten (BUXTON & PHILLIPS, 1980). Kulturen können nur mit relativ großen Inokulationen gewonnen werden. BUXTON & PHILLIPS (1980) arbeiten mit 1 ml.

Im allgemeinen enthalten die Nährmedien für L-Formen inaktiviertes Serum, niedrige Agarkonzentrationen und hohe Salzkonzentrationen für osmotische Stabilität. Inaktivierte Seren von verschiedenen Tierarten wirken in unterschiedlichem Maße begünstigend auf das Wachstum von L-Formen verschiedener Bakterien (KALMANSON et al., 1968). Inaktiviertes Serum verhindert die Lysis der L-Formen durch Antikörper und Komplement und schützt vor toxischen und hemmenden Stoffen im Medium (HIJMANS et al., 1969). Seren, die nach Immunisierung mit L-Formen bis 56° C 30 min erhitzt worden sind, können noch L-Formen homologer Stämme töten oder behindern (LYNN & HALLER, 1968). Frisches Serum verschiedener Tierarten dagegen verhindert ganz oder teilweise L-Wachstum verschiedener Bakterienspezies (KALMANSON et al., 1968; McGEE et

al., 1972) in einem Vorgang, der Komplement verbraucht (McGEE et al., 1972). Agar wirkt antikomplementär (CLASENER et al., 1970). Saccharose wirkt ebenfalls antikomplementär und hemmt dadurch den bakteriziden Effekt (MUSCHEL & LARSEN, 1970). Die verschiedenen Komponenten des Mediums beeinflussen sich gegenseitig (HIJMANS et al., 1969).

Bakterienspezies haben verschiedene Ansprüche an die Medien (HIJMANS et al., 1969). Manche Nährmedien reichen aus für Wachstum, nicht aber für Induktion. Die Oberfläche von festen Medien muß feucht gehalten werden (HIJMANS et al., 1969). L-Formen und Protoplasten brauchen in der Regel eine Umgebung mit erhöhter Osmolarität. Die optimale Konzentration und die Art der osmotisch wirksamen Salze im Medium variiert zwischen den Bakterienspezies (HIJMANS et al., 1969). Einige Arten, z.B. L-Formen von *Streptobacillus moniliformis* oder *Proteus* spp. sind nicht unbedingt auf osmotischen Schutz angewiesen. Ein plötzlicher Abfall der Osmolarität des Mediums wird von L-Formen schlecht vertragen (HIJMANS et al., 1969). Das Wachstum mancher Bakterienspezies in der L-Form wird begünstigt durch bivalente Metallionen, wie Magnesium oder Kalzium (*S. paratyphi*) (LANDMAN & GINOZA, 1961). In manchen Fällen wachsen L-Kolonien erst nach einigen Tagen oder Wochen bei einer Bebrütungstemperatur von 35 - 37° C (HIJMANS et al., 1969).

L-Formen von *Bac. subtilis* brauchen mehrere Tage, um sich von festem auf flüssiges Medium zu adaptieren, während Stämme von *Bac. licheniformis* nur 24 h benötigen (WYRICK & ROGERS, 1973). Dabei ist eine schrittweise Adaptation der L-Formen an verschiedene Kochsalz-Konzentrationen möglich (PACHAS & CURRID, 1974, arbeiten mit Konzentrationen von 2,0%, 1,5%, 1,0%, 0,85% und 0,5% Kochsalzgehalt).

Lebensfähige Einheiten werden nach über sechs Monaten bei Raumtemperatur in L-Kulturen gefunden (PACHAS & CURRID, 1974). Lyophilisierte L-Kulturen sind nach fünf Monaten Lagerung bei 4° C und Zusatz von Pferdeserum noch wachstumsfähig (HIJMANS et al.,

1969). Im Kühlschrank bleiben sie mit Serumzusatz etwa zehn Tage lebensfähig; Tiefgefrieren bei -70°C ergibt gute Resultate (L-Kolonien überleben drei Jahre) (HIJMANS et al., 1969).

L-Formen können z.T. in destilliertem Wasser überleben (RAZIN & ARGAMAN, 1963). Die Hülle der L-Formen ist osmotisch stabiler als die der Protoplasten (HIJMANS et al., 1969). In Kulturen verschiedener Bakterienarten erscheint ein begleitendes L-Kolonie-Wachstum (MATTMAN et al., 1961).

2.2.9. REAKTIONEN DES WIRTES AUF L-FORMEN

Das Fehlen der Zellwand, die kleine Gestalt und bei manchen L-Formen die relative osmotische Stabilität können in vivo eine Persistenz begünstigen. Vor manchen antimikrobiellen Stoffen und Gewebefaktoren sind sie durch ihre Wandlosigkeit geschützt (McDERMOTT, 1958). Nach HARRIS (1960) ist für L-Formen die Chemotaxis nicht im gleichen Maße wie bei parentalen Formen ausgeprägt. Da spezifische Opsonine, die gegen Zellwandbestandteile gerichtet sind, L-Formen nur bedingt betreffen, können Phagozyten L-Formen weniger gut angreifen (JENKIN, 1963; HIRSCH & STRAUSS, 1964). Kleinere Partikel werden langsamer phagozytiert als größere (MIMS, 1964). Penicillininduzierte Sphäroplasten von E.coli werden langsamer von Pferdeleukozyten phagozytiert als ihre parentale Form (LISOWSKI et al., 1959).

Nach GODZESKI et al. (1966) sind L-Formen gegen die spezifischen und unspezifischen Abwehrmechanismen des Wirtes, unter deren Einwirkung sie entstanden sind, relativ unempfindlich.

Da L-Formen in der Regel nach experimenteller Injektion schnell aus dem Organismus verschwinden (CLASENER et al., 1970), sind wirksame Abwehrmechanismen des Wirtes anzunehmen. KALMANSON et al. (1968) beobachteten, daß menschliches Serum durch Penicillin oder Lysozym entstandene Protoplasten von Strept. faecalis und

durch Penicillin entstandene Protoplasten von *Strept. pyogenes*, *Staph. aureus* und *E.coli* tötet. Gegen sämtliche parentale Formen ist dieses Serum jedoch unwirksam. Andererseits werden durch Penicillin entstandene Protoplasten von *Prot. mirabilis* davon nicht angegriffen, während die elterliche Form getötet wird. Die protoplastenhemmende Aktivität variiert mit dem Serumsponder, daneben spielen Spezies und Stamm des Erregers und auch das Medium eine Rolle (KALMANSON et al., 1968). DAVIS et al. (1968) beobachteten, daß einige gramnegative parentale Bakterien (einige Stämme von *E.coli* und *S.typhimurium*), die durch Serum "getötet" wurden, am Leben erhalten werden können, wenn die Cytoplasmamembran intakt bleibt. Zerstörung der Cytoplasmamembran durch menschliches Serum geht einher mit Verlust der Lebensfähigkeit der Zelle (FEINGOLD et al., 1968). Kalzium und Magnesium können Sphäroplasten vor Lysis bewahren.

In-vitro-Studien ergeben, daß normales menschliches Serum für L-Formen von einigen Bakterienarten tödlich ist (McGEE et al., 1971). Es findet eine rasche Lysis mit Fragmentbildung der Cytoplasmamembran statt. Im Laufe der Zerstörung zeigen sich elektrodichte fibrilläre Auflagerungen auf beiden Seiten der Membran (McGEE et al., 1972). Als tödliche Faktoren wirken Komplement zusammen mit einer Immunglobulinfraktion (IgM oder IgG), je nach Artzugehörigkeit des L-Formstammes (McGEE et al., 1972). Bei *Prot. mirabilis* (ATCC 14168) L-9 wirkt die IgM-Fraktion zusammen mit Komplement tödlich, bei *Staph. aureus* (ATCC 19640) Smith-L die IgG-Fraktion.

Tiere können wirksam hemmende Antikörper nach Immunisierung (KAGAN, 1967; LYNN & HALLER, 1968) oder experimentell gesetzter Infektion (BRAUDE, 1970) durch L-Formen bilden. Diese Antikörper sind komplementunabhängig (KAGAN, 1967; LYNN & HALLER, 1968). BRAUDE (1970) zeigt, daß Hitze-inaktiviertes Serum, das zwei Wochen nach Infektion von Ratten mit stabilen L-Formen von *Prot. mirabilis* (L-18) gewonnen wird, L-Formwachstum im Experiment unterdrückt.

Antigene gegen die Cytoplasmamembran der elterlichen Bakterien von A-Streptokokken scheinen mit Antigenen gegen die entsprechende L-Form im Kreuzexperiment zu reagieren (FREIMER, 1963). So finden WEIBULL et al. (1967) bei experimenteller Infektion mit elterlichen Bakterien Antikörper, die auch gegen die entsprechenden L-Formen gerichtet sind. Die Cytoplasmamembran von elterlicher und L-Form unterscheidet sich strukturell und chemisch. Bei Wachstum in definiertem Medium enthält die Hülle der L-Form von *Proteus* mehr extrahierbares Lipid und weniger Lipopolysaccharide als der elterliche Stamm (NESBITT & LENNARZ, 1965). Spezifische Antikörper sowie unspezifische Serumfaktoren können in vitro L-Formen hemmen, Protoplasten und Sphäroplasten töten (KAGAN, 1967).

CAREY et al. (1960) und WITTLER (1965) stellen gesteigerte Überlebenschancen von wanddefekten Formen in immunisierten Wirten fest. Einige Stämme überleben innerhalb von Makrophagen oder Monocyten (HATTEN & SULKIN, 1966).

Bei 35 von 85 Ratten, die experimentell mit stabilen L-Formen von *Prot. mirabilis* (L-18) ins Nierenmark infiziert worden sind, bilden sich Blasensteine aus Magnesium-Ammonium-Phosphat ($Mg\ NH_4\ PO_4$). Bei der Bildung solcher Blasensteine soll Urease des L-Form-Infektionsstammes beteiligt sein (BRAUDE, 1970).

2.2.10. ANTIBIOTIKA - THERAPIE

L-Formen sind unempfindlich gegen Antibiotika, die ausschließlich die Zellwandsynthese hemmen. Wie aus der Literatur hervorgeht, sind L-Formen gegen bestimmte Antibiotika insbesondere gegen Cycloserin und Bacitracin (ROBERTS, 1967) unempfindlicher als ihre elterlichen Formen. Gegen Tetracycline und Nitrofurane (MONTGOMERIE et al., 1966) sind die L-Formen meist empfindlicher. Außerdem reagieren L-Formen ebenso oder stärker als ihre elterliche Form

auf Ristocetin, Novobiocin, Kanamycin und Streptomycin (MONTGOMERIE et al., 1966; ROBERTS, 1967). Unterschiedliche Ergebnisse zeigen sich von Spezies zu Spezies bei Neomycin, Polymyxin B, Colistin und Vancomycin.

Für die Therapie empfehlen McGEE & WITTLER (1969) eine Kombination, wobei ein Antibiotikum die Zellwandbildung hemmen soll und damit die parentale Form eliminiert, während das andere durch Beeinflussung der Stoffwechselfvorgänge innerhalb der Zelle die L-Form angreift. Mißerfolge mit dieser Therapie weisen darauf hin, daß noch andere Faktoren eine Rolle spielen können (GUTMAN et al., 1967; KALMANSON & GUZE, 1964; MATTMAN & MATTMAN, 1965). Bei Patienten mit destruktiver Lungentuberkulose vermag Rifampicin zusammen mit anderen Therapeutika eine L-Form-Bildung der Mykobakterien zu verringern (KARACHUNSKY et al., 1986). Chloramphenicol hemmt wirkungsvoll stabile L-Formen von *Prot. mirabilis* (L-18) bei Ratten (BRAUDE, 1970), wenn sie ins Nierenmark injiziert werden.

Nach SEARS (1984 - mündliche Mitteilung) sind L-Formen der Grund für Impfversager bei Impfungen gegen Staphylokokken-Mastitis.

3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1. MATERIAL UND METHODE

3.1.1. Probenmaterial

Um Untersuchungsmaterial (Tauben und Taubeneier) in größeren Mengen zu bekommen, wurde die Mitarbeit der Züchter durch eine Publikation in der Zeitschrift "Brieftaube" angeregt. Ein Fragebogen (s. Anhang) sollte möglichst einheitliche Vorberichte bringen. Die wichtigsten Fragen waren:

- Haben Sie schon Salmonellen im Bestand gehabt?
- In welcher Form zeigt(e) sich die Krankheit?
- Waren nur Einzeltiere betroffen?

Erschienen keine ausgefüllten Fragebögen mit dem eingesandten Probenmaterial, wurde der beigefügte Vorbericht in die Auswertung des Fragebogens aufgenommen.

Es wurden 587 Proben aus 221 Betrieben eingesandt. Davon betrug der Anteil an Tauben 53,8%, an Eiern 46,2%. Der Anteil an Rasse-tauben lag bei 24,9%. Als Vergleichsproben von Tieren, die mit großer Wahrscheinlichkeit noch nie einer antibiotischen Therapie unterworfen waren, dienten 25 Stadttauben und 25 Stadttaubeneier. So konnten insgesamt 637 Proben untersucht werden. 46,8% der Tauben wurden lebend eingesandt.

3.1.2. Verarbeitung des Probenmaterials

Tauben:

Es wurde eine Sektion durchgeführt und vorliegende Veränderungen protokolliert. Herz und Teile der Leber wurden steril entnommen und in sterile Petrischalen überführt. Die Einleitung der bakteriologischen Untersuchung dieser Organe erfolgte noch am gleichen Tag. Von jeder Taube wurde noch im Sektionsraum eine Synovia-Probe eines Gelenkes gewonnen. Waren die Gelenke unverändert, wurden die Proben immer von der Articulatio tarso-metatarsica genommen, sonst von den veränderten Gelenken. Die mit einem sterilen Wattetupfer entnommene Synovia kam sofort einerseits auf eine Blutagar- und andererseits auf eine L-Platte, sowie in L-Anreicherungsmedium (s. Anhang).

Taubeneier:

Das Ei wurde mit einem in Spiritus getränkten Tupfer gereinigt. Anschließend wurde mit einer sterilen Schere die Schale über der Luftkammer aufgeschnitten und der Inhalt in eine sterile Petrischale überführt. Die Beurteilung des Eihaltens erfolgte nach folgendem Schema:

- a) unbefruchtet - befruchtet - Autolyse/Fäulnis
 - bei Fäulnis wurde das betreffende Ei nicht weiter bearbeitet
- b) Größe des Embryos:
 - klein : im 1. Drittel der Entwicklung
 - mittel: im 2. Drittel der Entwicklung
 - groß : im letzten Drittel der Entwicklung
- c) zum Schlupf umgedreht, nicht umgedreht,
 - Dottersack eingezogen, nicht eingezogen
- d) pathologisch-anatomische Veränderungen

Mit sterilem Tupfer wurde ein Teil der Dottersackmembran, wenn möglich auch der Leber, zur bakteriologischen Untersuchung entnommen. Bei unbefruchteten Eiern wurde ein Teil der Vitellinmembran mit dem anhaftenden Dotter benutzt.

3.1.3. Bakteriologische Untersuchung

Um Verunreinigungen des Mediums auszuschließen, wurden nichtinokulierte Nährböden zur Kontrolle bebrütet.

Das beschriebene Probenmaterial wurde wie üblich auf Blut- und Endoagarplatten ausgestrichen und mit Tetrathionatbouillon (Oxoid CM343) angereichert. Zusätzlich kam Material auf L-Platten und L-Anreicherungsmedien. Blut- und Endoagar wurden nach 24 h oder bei Bedarf nach 48 h bei 37° C abgelesen, Material der Tetrathionatröhrchen nach 24 h bei 42° C auf Brillantgrünagar (Oxoid CM329) ausgestrichen und die Platten 24 h bei 37° C bebrütet. Bei der Auswertung der Blut- und Endoplatten wurde der Keimgehalt in drei Stufen (gering-, mittel- und hochgradig) unterschieden. Der morphologischen Beurteilung der Kolonien folgten die Einzelkeimbetrachtung (Phasenkontrastmikroskop und/oder Gramfärbung) und die biochemische Untersuchung je nach Bakteriengruppe.

Biochemische Nachweise:

- Kligler-Iron Agar (Abbau von Glukose - Laktose, H_2S -Nachweis, Gasbildung aus Glukose) -(Difco Nr. 0086-01)
- Urea-Agar (Feststellung der Harnstoffspaltung) -(Difco Nr. 0283-01)
- Acetoin-Nachweis nach Voges-Proskauer in der Modifikation von O'MEARA (1931), zitiert nach WINKLE (1979)
- Indolbildung aus Tryptophan unter Verwendung von Phenol Red Broth (Difco Nr. 0092-01) und Kovacs' Reagens (Merck Art. 9293)
- Nachweis einer Lysindecaboxylase in Lysindecaboxylase Broth (Difco Nr. 0215-01)
- Wachstum im Citratmedium nach KOSER, zitiert nach WINKLE (1979)
- Cytochromoxidase-Nachweis mit N,N,N',N',-Tetramethyl-1,4-phenylendiamin-dihydrochlorid (Sigma Nr. T-3134) in 1%iger wässriger Lösung
- Katalase-Nachweis (Objektträgermethode)
- Phenylalanin-desaminase-Nachweis und Färbung eventueller Reaktionskörper mit 10%iger Eisen III-Chlorid-Lösung (Merck Art. 5512)

- Nachweis der Reduktion von Nitrat zu Nitrit in Nitratbouillon (Merck Art. 10204) und Nachweis des Nitrits mit Griess-Ilosvays-Reagens (Merck Art. 9023) und Gegenprobe auf nicht reduziertes Nitrat mit Zinkstaub
- Wachstum in Kaliumcyanid-Bouillon (Merck Art. 5412)
- O/F-Test nach HUGH & LEIFSON (1953) in der Modifikation nach MANNHEIM; Phenol Red Broth (Difco Nr. 0092-01), 1% Glukose, Agar Bacteriological (Oxoid L 11)
- Beweglichkeitsprüfung im halbfesten Medium; Beef extract (Difco Nr. 0126-01), Pepton (Merck Art. 7213), Natriumchlorid, Agar Bacteriological (Oxoid L 11)
- Fähigkeit zum Abbau anderer Zucker oder Zuckeralkohole nur vereinzelt bei Bedarf

Die L-Platten wurden in einer feuchten Kammer bei 37° C fünf bis sieben Tage bebrütet und dann unter dem Mikroskop abgelesen. Der Transfer gewachsener Kolonien auf Blut- oder L-Agarplatten fand mittels eines Agarblockes statt, da L-Kolonien teilweise - ähnlich wie Mycoplasmen-Kolonien - in den Agar einwachsen und sich deshalb nicht mit einer Öse abnehmen lassen. Die Reversion der L-Formen wurde über mehrere Passagen auf L-Agar sowie auf Blutagar versucht. Sobald Wachstum auf Blutagar zu beobachten war, wurden die Passagen auf diesem fortgesetzt. Die Differenzierung der revertierten Keime fand wie bei normalen Bakterien statt.

Von den L-Anreicherungsmedien wurden mit sterilen Wattetupfern L-Platten beimpft und diese dann, wie beschrieben, weiter behandelt. Beim L-Medium wurde keine Semi-Quantifizierung des Keimgehaltes vorgenommen.

Bei grampositiven Bakterien erfolgte die Differenzierung meist nur bis zum Genus, bei den Micrococcaceen bis zur Familie. Allerdings wurde der Clumpingfaktor bestimmt, um Stämme mit diesem Pathogenitätsmerkmal zu erfassen. Eine Unterscheidung der Strepto-

kokken in eigentliche Streptokokken und Enterokokken nach BERGEY'S MANUAL (1986) wurde nicht vorgenommen. Die meisten Stämme wurden jedoch aufgrund ihrer Wachstumseigenschaften den Enterokokken zugerechnet.

Die gramnegativen Bakterien wurden weitgehend bis zur Spezies ausdifferenziert, aber Keime mit bekannt geringer oder fraglicher Pathogenität nur bis zum Genus. Da bei Tauben STMC als dem Wirt besonders angepaßte Subspezies gilt, fand auch die Differenzierung so weit statt.¹⁾

3.1.4. Serologische Untersuchungen

Bei der Objektträgerschnellagglutination wurden agglutinierende Antikörper durch Suspension von STMC-Kolonien in Salmonella-Testserum polyvalent 1 (Behring ORMT 10/11) ermittelt. Serumproben wurden durch Einreiben von STMC-Kolonien auf agglutinierende Antikörper untersucht.

3.1.5. Antibiotogramme

Stämme von STMC und E.coli wurden in Brain-Heart-Infusion-Broth (Oxoid CM225) suspendiert und auf Mueller-Hinton-Agar (Oxoid CM337), der unter Zugabe von 5% geschütteltem Rinderblut hergestellt wurde, 24 h bei 37° C bebrütet. Die Hemmzonengröße wurde bestimmt und mit der von einem Salmonellen-Stamm, der gegen die untersuchten Antibiotika voll empfindlich ist, verglichen.

¹⁾ An dieser Stelle möchte ich Herrn Prof. Dr. Pietzsch vom Bundesgesundheitsamt in Berlin sehr herzlich für die freundliche Bestätigung der Salmonella-Isolate als STMC danken.

4. ERGEBNISSE

4.1. Probenmaterial

Insgesamt wurden 637 Proben ausgewertet. Das Probenmaterial setzte sich folgendermaßen zusammen:

316 Tauben und 271 Taubeneier ($N = 587$) wurden eingesandt. 25 Stadttauben und 25 Stadttaubeneier dienten als Vergleich.

Unter den Proben waren 146 Rassetauben, die übrigen waren Brieftauben. Als Tauben werden auch 41 Nestlinge gezählt.

Tab.1: Zusammensetzung des eingesandten Probenmaterials

	Σ	Reisetauben	Rassetauben
Tauben	316	228 (72,2%)	88 (27,8%)
Eier	271	213 (78,6%)	58 (21,4%)
Σ	587	441	146

Aus 221 Taubenbeständen kamen jeweils zwischen 1 und 22 Proben zur Untersuchung. 110 Züchter (49,8%) gaben an, schon Salmonellen im Bestand gehabt zu haben. 47 Züchter (21,2%) hatten nach eigenen Angaben noch nichts mit dieser Krankheit zu tun und 64 (29,0%) machten keine diesbezüglichen Angaben.

Tab.2: Auswertung des Fragebogens

	Eier		Tauben		Eier	Tauben	Σ
	Reiset.	Rasset.	Reiset.	Rasset.	N=271	N=316	N=587
Problem-Bestand	128	53	129	53	181 66,8%	182 57,6%	363
kein Problem-Bestand	57	3	41	9	60 22,1%	50 15,8%	110
keine Angaben	28	2	58	26	30 11,1%	84 26,6%	114

68 Bestände (30,8%) hatten gelegentlich, 14 (6,3%) regelmäßig (z.B. ein mal jährlich) mit Salmonellen zu tun. Als weitere Parameter gaben die Züchter an:

- plötzliche Bestandserkrankung: 40 (18,1%)
- langdauernde Krankheit mit Abmagerung: 41 (18,5%)
- mit Gelenkform: 75 (33,9%)
- mit Gehirnform: 45 (20,4%)
- nur Einzeltiere: 71 (32,1%)
 - davon vorwiegend Jungtiere: 50 (22,6%)
 - davon vorwiegend Nestlinge: 26 (11,8%)

Die Frage nach der Betriebsgröße wurde nur sehr vage ausgefüllt, so daß diese Kategorie in der Auswertung entfiel.

4.2. Sektionsergebnisse

Hepatopathie (152 Tiere)

Die geschwollenen Lebern zeigten verdickte Ränder und meist weiche Konsistenz. Vereinzelt ließ sich deutliche Läppchenzeichnung nachweisen. Vereinzelt zeigte das Gewebe weißliche Herdchen bis Hanfkorngröße oder auch harte Konsistenz. Bei diesen mehr chronischen Fällen war auch unregelmäßig eine gallige Imbibition des Gewebes zu beobachten.

Nephropathie (173 Tiere)

In den meisten Fällen bestand eine ausgeprägte Hyperämie, mit oder ohne Injektion der subkapsulären Nierengefäße. Die Niere war geschwollen und zeigte deutliche Läppchenzeichnung. Das Gewebe hatte eine weiche bis brüchige Konsistenz und auf der Schnittfläche angeschoppte Harnkanälchen. Entsprechend waren auch die Harnleiter in einigen Fällen infolge Uratanschoppung gut sichtbar. 2 Tiere hatten eine Nephritis urica.

Veränderungen der Milz (16 Tiere)

Die Milzen waren unterschiedlich in ihrer Größe. Die bei Vögeln häufig undeutlich sichtbare Trennung zwischen weißer und roter Pulpa war in einigen Fällen völlig verwischt.

Veränderungen des Herz- und Kreislaufapparates (56 Tiere)

In einigen Fällen war Dilatation der rechten Herzkammer als Folge der Belastung im großen Kreislauf, Myodegeneratio cordis und Stauungshyperämie der parenchymatösen Organe zu beobachten.

Arthritis (30 Tiere)

Die Gelenkläsionen waren im Prinzip gleichartig. Der Grad der Veränderung variierte. Die Gelenkkapseln waren verdickt, teilweise verschwartet (5 Fälle) und in 1 Fall war das Gelenk als solches bereits versteift. Die Synovia war gering (9 Fälle), mittelgradig (9 Fälle) oder stark vermehrt (8 Fälle). Sie zeigte sich

gelblich trüb und enthielt in einigen Fällen fibrinartige Flöckchen. Vereinzelt wurden Erosionen des Gelenkknorpels beobachtet. Die 30 Tiere mit veränderten Gelenken litten an einer Arthritis acuta oder subacuta bis chronica. Das gilt auch für 2 der zur Kontrolle benutzten Stadttauben. Bei 16 Tauben war ein Art. cubiti verdickt, bei 10 ein Art. intertarsica, 2 Tiere hatten beide Artt. intertarsicae geschwollen und bei 1 Taube war es ein Art. genus. Zusätzlich wurden 3 Gelenkpunktate untersucht, die als solche eingeschickt worden waren.

Veränderungen am Respirationsapparat (20 Tiere)

Am Atmungsapparat zeigten sich fibrinöse Entzündungen der Luftsäcke mit und ohne Übergang auf Pericard, Leberkapsel oder Peritoneum (9 Tauben mit Polyserositis). Die Lungen selbst wiesen makroskopisch keine auffälligen Läsionen auf. Lediglich bei 2 Tieren bestand ein - möglicherweise agonales - Lungenödem.

Fibrinöse Pharyngitis oder Inguveitis (17 Tiere)

Es zeigten sich herdförmige bis konfluierende gelb-käsige Beläge auf der Schleimhaut von Rachen und Kropf, die sich meist ohne Substanzverlust ablösen ließen. Im abgelösten Material konnten unter dem Phasenkontrastmikroskop Trichomonaden nachgewiesen werden.

Die übrigen Tiere zeigten keine wesentlichen makroskopischen Veränderungen.

4.3. Bakteriologische Ergebnisse

Eine Zusammenfassung der Organveränderungen und der Bakterienisolate (in Normal- und L-Form) von den eingesandten Tauben und den Stadttauben ist aus Tab.3, 4 und 5 zu entnehmen. Dabei bedeuten die Isolate aus den betreffenden Organen nicht, daß diese Keime auch Ursache der Veränderungen sind.

Tab.5: andere Enterobacteriaceen bei Tauben

Organveränderung	Citrobacter	Proteus	Klebsiella	Enterobacter
Hepatopathie	2/1	6	1	1
Nephropathie	2/1	6	1	1
Enteritis	3/2	4	1	0
Myocardopathie	2/1	1	0	0
Arthritis	0	1	0	1
Pneumonie	1/1	0	0	0
Polyserositis	0	1	0	0
ohne bes. Befund	0	1	1	0

Zahl der Bakterienisolate / Anteil der Isolate in L-Form

Bei den Stadttauben fand sich 1 Tier mit Klebsiella-Infektion. Es litt an Hepatopathie, Nephropathie und Myocardopathie.

Von 3 Tieren mit Arthritis lagen keine Sektionsberichte vor. Es konnten 1x keine Keime und 2x L-Formen von Micrococcaceen aus den Gelenken isoliert werden. Die Auswertung der 3 Gelenkpunktate ergab in einem Fall L-Formen von STMC und in den anderen Fällen L-Formen von Bacillus.

Tab.3: Zusammenfassung der Organveränderungen und der Bakterienisolate

Organveränderung	L	Salm.	E.coli	Y.	andere(x) Enterob.	Act.	Ae.	Ps.	Ac.	Alc.	Strep.	Micr.	Bac.	keine Keime
Hepatopathie	152	56/2	67/18	4/1	9/1	0	1/0	2/1	9/6	4/1	28/12	37/23	41/37	15
Nephropathie	173	57/8	65/24	2/0	1/1	2/0	0	6/1	7/4	2/1	35/18	41/29	41/37	20
Enteritis	162	47/6	56/16	4/1	10/2	1/0	1/0	4/1	9/5	1/1	33/20	41/30	41/37	21
Splenopathie	16	9/1	8/4	1/0	0	0	0	0	0	0	4/1	4/3	2/2	2
Myocardopathie	56	15/1	31/7	1/0	3/1	0	1/0	2/1	3/2	0	13/8	12/8	11/10	5
Arthritis	24	10/3	3/3	0	2/0	0	0	0	0	0	4/4	9/7	5/5	2
Pneumonie	20	7/0	10/6	0	1/1	0	0	0	0	0	4/3	2/2	5/5	2
polyserositis	9	0	5/1	0	1/0	0	0	0	1/1	0	3/1	0	0	1
Pharyngitis	17	2/0	11/3	0	0	1/0	0	0	1/0	0	5/2	3/1	5/5	3
Orchitis	1	0	0	0	0	0	0	0	1/1	0	0	1/1	0	0
ohne bes. Befund	34	4/0	13/6	0	2/0	1/0	1/0	2/0	7/1	1/0	3/3	13/11	12/11	4

(x) = andere Enterobacteriaceen s. Tab.:5 ; Salm. = Salmellen; Y. = Yersinia; Act. = Actinobacillus;
 Ae. = Aeromonas; Ps. = Pseudomonas; Ac. = Acinetobacter; Alc. = Alcaligenes; Strep. = Streptococcus;
 Micr. = Micrococceen; Bac. = Bacillus; P. = Pasteurella;
 Zahl der Bakterienisolate / Anteil der Isolate in L-Form;

Tab.4: Organveränderungen und Bakterienisolate der Stadtrauben

Organveränderung	E.coli	andere(2 Enterob.	P.	Ps.	Ac.	Strep.	Micr.	Bac.	keine Keime
Hepatopathie	11/2	1/0	2/0	0	0	2/2	2/2	2/2	1
Nephropathie	8/2	1/0	0	0	0	1/1	1/1	4/4	1
Enteritis	6/2	0	2/0	0	1/1	2/2	1/0	4/3	1
Splenomegalie	3/0	0	0	0	0	0	0	0	0
Myocardopathie	6/0	1/0	0	0	0	1/1	3/3	1/1	0
Arthritis	0	0	1/0	1/0	0	1/1	0	0	0
Pneumonie	2/1	0	0	0	0	0	0	1/1	0
ohne bes. Befund	0	0	0	0	0	0	0	1/1	0

Legende s. Tab.:3

Bei 23 Tauben deren Gelenke makroskopisch verändert waren, wurde als L-Form 3x STMC, 3x E.coli, 5x Streptokokken, 8x Micrococcaceen und 6x Bacillus isoliert. Bei 161 Tauben deren Gelenke sich makroskopisch unverändert zeigten, wurde als L-Form 8x STMC, 38x E.coli, 1x Yersinia, 2x Citrobacter, 1x Pseudomonas, 13x Acinetobacter, 1x Alcaligenes, 30x Streptokokken, 53x Micrococcaceen und 56x Bacillus isoliert.

In Tab.6 wurde der Entwicklungsstand der Taubenembryonen aufgelistet. Eine pathologisch-anatomische Beschreibung der Organe war wegen Autolyse und Mumifizierung nur in einem kleinen Teil der Fälle möglich (s. Tab.7)

Tab.6: Entwicklungsstand der Taubenembryonen

	Reiset.	Rasset.	Stadt.	Ges.
unbefruchtet	103	16	3	122 (41,2%)
frühembryonaler Tod	12	6	13	31 (10,5%)
bis 1. Drittel	32	6	1	39 (13,2%)
bis 2. Drittel	13	2	2	17 (5,7%)
bis 3. Drittel	12	13	4	29 (9,8%)
vor Schlupf	41	15	2	58 (19,6%)
Σ	213	58	25	296

Tab.7: Pathologie der Embryonen

	Reiset.	Rasset.	Stadtt.	N=296
Autolyse	142	43	5	190 64,2%
eingetrocknet	10	6	1	17 5,7%
Hyperämie der Haut	20	9	1	30 10,1%
Hepatopathie	10	0	0	10 3,4%
Myodegeneratio cordis	38	14	2	54 18,2%
Stauungshyperämie der großen Gefäße	1	3	0	4 1,3%
weißliche Skelett- Muskulatur	3	1	1	5 1,7%
Nacken-Ödem	7	1	1	9 3,0%

Ein Embryo war zum Schlupf umgedreht und hatte den Dottersack noch nicht eingezogen (0,3%).

Die Bakterienisolate mit entsprechenden Alterstufen der Embryonen werden in Tab.8a und 8b dargestellt.

Tab.8b: andere Enterobacteriaceen aus Taubeneiern

Entwicklungsstand	Citrobacter	Enterobacter
unbefruchtet	1	0
großer Embryo	1	2
vor Schlupf	0	1

Tab.8a: Entwicklungsstand der Taubenembryonen und Bakterienisolate

Entwicklungs- stand	Σ	Salm.	E.coli	andere(2 Enterob. Ae.	Ac.	Alc.	Strep.	Micr.	Bac.	keine Keime	
unbefruchtet	119	2/1	45/7	1/0	1/1	5/2	0	10/5	23/13	25/18	23
frühembryo- naler Tod	18	0	8/3	0	0	3/1	0	3/2	2/2	4/3	1
kleiner E.	38	0	18/1	0	0	2/2	0	5/0	5/1	7/3	7
mittlerer E.	15	0	9/1	0	0	0	1/1	1/1	1/0	2/1	3
großer E.	25	1/1	13/1	3/0	0	0	0	1/1	3/2	7/6	2
vor Schlupf	56	1/1	35/1	1/0	0	2/1	2/2	6/2	11/4	6/6	6
Σ	271	4/3	128/14	5/0	1/1	12/6	3/3	26/11	45/22	51/37	42

Legende s. Tab.:3

Bei den Stadttaubeneiern konnten in 5 Fällen keine Keime isoliert werden. STMC wurde nicht festgestellt. E.coli kam in 3 Fällen vor, davon 1x in der L-Form; je 1x konnten Citrobacter und Alcaligenes in der Normal-Form isoliert werden und 3x Acinetobacter in der L-Form. L-Formen konnten 3x von Streptokokken, 9x von Micrococcaceen und 6x von Bacillus spp. nachgewiesen werden.

In Tab.9 wird der Ei-Inhalt bei Salmonellainfektion beschrieben.

Tab.9: Salmonellenisolate aus Taubeneiern

Entwicklungsstand	path. Veränderungen	Erreger-Form	Taube
vor Schlupf	ohne bes. Befund	L-Form	Reiset.
großer Embryo	autolytisch eingetrocknet Hyperämie der Haut	L-Form	Rasset.
unbefruchtet	autolytisch	N-Form	Reiset.
unbefruchtet	frisch gelegt	L-Form	Reiset.

Die L-Formen der verschiedenen Bakterien wurden ausnahmslos als instabile Formen isoliert. Auf eine eingehende morphologische Beschreibung wurde verzichtet, da die verschiedenen Isolate sich offensichtlich in unterschiedlichen Stadien der L-Formbildung bzw. der Reversion zur parentalen Form befanden.

Ein Teil der Kolonien konnte mit bloßem Auge erkannt werden, die Mehrzahl jedoch - vor allen Dingen, wenn es sich um Einzelkolonien handelte - nur unter dem Mikroskop. Die Koloniemorphologie variierte erheblich. Es konnten viele in der Literatur beschriebene Formen beobachtet werden. Während die den Mycoplasmakolonien vergleichbare Form nur in sehr wenigen Fällen festzustellen war,

zeigte sich die Mehrzahl der Kolonien als flache feingranuläre bis vakuolige Struktur mit einer kleinen zentralen Verdichtung, in der die Kolonie in den Agar eingewachsen war.

Bei der Reversion wandelten sich die Kolonien auf der L-Platte häufig schnell zu "normal" aussehenden Bakterienkolonien um. Die Übertragung auf Blutplatten zeigte jedoch in der Regel kleine tautropfenartige Kolonien und in Einzelfällen kaum sichtbares Koloniewachstum. Die vollständige Reversion wurde durch eine unterschiedliche Zahl von Passagen - in der Mehrzahl drei bis vier - auf Blut-Agar erreicht. Vereinzelt waren mehrere Passagen auf L-Medium und dann weitere Blut-Agar-Passagen notwendig. Die Einzelkeime der instabilen L-Formen hatten überwiegend eine kokkoide Form, wobei die Größe der Kokken ebenfalls variierte. Mit der fortschreitenden Reversion erfolgte bei den Stäbchen eine Streckung, bei den Kokken kam es zu gleichmäßig großen, kompakten Formen. Bei den gramnegativen Bakterien wurde der zunehmende Wandaufbau durch eine intensivere Gramfärbung (Rotfärbung) angezeigt. Die beginnende Bildung der grampositiven Wand zeigte sich als unregelmäßige Granula-ähnliche Tüpfelung des Bakterienleibes. Durch eine in der Gramfärbung deutlich sichtbare langsame Bildung der grampositiven Wand war es möglich, bei den Bacillen zwischen Verunreinigung durch geringe Zahlen vollbewandeter Bakterien und wanddefekten Formen zu unterscheiden.

Die bakteriologischen Ergebnisse lassen sich wie folgt zusammenfassen:

STMC und E.coli wurden sehr häufig isoliert. Daneben machten Bacillus, Micrococcaceen und Streptokokken einen erheblichen Anteil der Isolate aus.

Die meisten Micrococcaceen wiesen keinen Clumping-factor auf. Aus den Gelenken wurden vor allem über die Anreicherung häufig Bacillen (mit und ohne β -Hämolysen) isoliert.

4.3.1. Salmonella typhimurium var. copenhagen

Salmonellen wurden nur als STMC bzw. der dazugehörigen L-Form isoliert. Es konnten aus 587 Proben in 79 Fällen (13,4%) STMC isoliert werden; während von 271 Taubeneiern 4 (1,5%) STMC beherbergten, wurden bei 316 Tauben 75 Keimträger ermittelt. Aus den Stadttauben konnten keine STMC isoliert werden.

Tab.10: Salmonellenfunde bei Tauben

	228 Reiset.	88 Rasset.	316 Tauben
STMC	55 (24,1%)	20 (22,7%)	75 (23,7%)

Tab.11: Salmonellenfunde bei Eiern

	213 Reiset.	58 Rasset.	271 Tauben
STMC	3 (1,4%)	1 (1,7%)	4 (1,5%)

Tab.:12 Verteilung der 75 Salmonellenfunde bei Tauben

	Reiset.	Rasset.	Σ	Anteil Nestlinge	
				Reiset.	Rasset.
+++ Org.	11	5	16	0	0
++ Org.	4	1	5	0	0
+ Org.	23	4	27	0	0
+++ Org., G.	8	5	13	3	3
+++ Org., G-L.	1	0	1	0	0
+ Org., G-L.	1	1	2	0	0
G. (1)	2	1	3	1	0
G-L. (1)	5	3	8	0	0

+, ++, +++ = gering-, mittel-, hochgradiger Befall; Org. = Leber, Herz; G. = Gelenkflüssigkeit; G-L. = als L-Form in der Gelenkflüssigkeit; (1) = keine Mengenangaben - s. Material und Methode

In 11 Fällen konnten Salmonellen nur in Gelenken, in 48 Fällen nur in Organen, in 13 Fällen in Organen und Gelenken auf Routine-nährböden, in 3 Fällen in Organen als elterliche Form und in Gelenken als L-Form isoliert werden. Von den 79 STMC-Funden konnten 11 (13,9%) nur als L-Form isoliert werden. Sie stammten aus 3 Eiern und 8 Tauben. Aus Taubeneiern konnte STMC 4x isoliert werden - 3x als L-Form und 1x als Normalform.

4.3.2. L-Formen anderer Bakterien

Neben STMC wurden auch von anderen Keimen die L-Form isoliert.

Tab.13a: Nachweis von weiteren Bakterien in der L-Form bei Tauben

	L-Form	L- und N-Form
E.coli	17	24
Yersinia	0	1
Citrobacter	2	0
Pseudomonas	1	0
Acinetobacter	13	0
Alcaligenes	0	1

L- und N-Form: bei dem gleichen Tier wurde neben der L-Form aus den Gelenken die Normal-Form des Keimes in Leber und Herz isoliert.

Von 341 Proben konnte der Erreger bei 29 (8,5%) Isolaten sowohl als L-Form in der Gelenkflüssigkeit gefunden als auch in der enterischen Form aus den Organen isoliert werden. Bei diesen 29 Proben wurden 3x Salmonellen, 24x E.coli, 1x Yersinia und 1x Alcaligenes gefunden. Bei 41 (12,0%) von 341 Proben konnten Bakterien ausschließlich als L-Form in der Gelenkflüssigkeit der Tiere ermittelt werden. Bei diesen 41 Proben wurden 8x Salmonellen, 17x E.coli, 13x Acinetobacter, 2x Citrobacter und 1x Pseudomonas isoliert.

Tab.13b: Nachweis von weiteren Bakterien in der L-Form bei Eiern

E.coli	15
Acinetobacter	9
Alcaligenes	3
Aeromonas	1

Von 296 Eiern wurden als L-Form 5,1% E.coli, 3,0% Acinetobacter, 1,0% Alcaligenes und in einem Fall Aeromonas isoliert.

4.3.3. Elektronenmikroskopische Abbildungen von STMC als parentale - und L-Form ')

Alle Proben wurden vor der Einbettung in Epoxyharz mit Glutaraldehyd und Osmiumtetroxyd fixiert bzw. vorkontrastiert. Die fertigen Schnitte wurden dann mit Uranylazetat und Blei (nach Reynolds) nachkontrastiert.

')

Herrn Professor Dr. Mahnel danke ich verbindlichst für die freundlicherweise durchgeführten Untersuchungen und die hilfreichen Erklärungen der Schnitte. Auch seiner Mitarbeiterin Frau Wolf möchte ich herzlich für die Unterstützung danken.

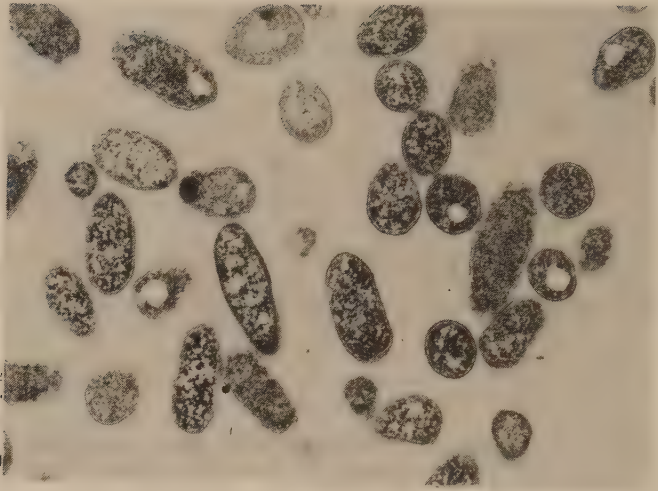


Bild 1 Vergrößerung: 16.250-fach



Bild 2 Vergrößerung: 16.250-fach

Bild 1 zeigt die parentale Form von STMC mit intakter Zellwand (Doppelstruktur). Das Chromatin ist kontrastiert. Die Zellwand wurde bei der Vorkontrastierung angefärbt, die Innenstrukturen überwiegend bei der Nachkontrastierung.

Bild 2 zeigt die L-Form von STMC. Es sind nur noch Zellwandreste zu sehen, die Strukturen erscheinen weitgehend destabilisiert. Plasma und Chromatin der Zelle sind stark elektronendicht, weil bereits bei der Vorkontrastierung das Osmium "ungehindert" eindringen konnte. Nur wenige Stellen, wie Teilungsgrenzen und kleine, nicht kontrastierte lipidhaltige Zonen bleiben hell.

4.4. Serologische Befunde

Insgesamt konnten 178 Serumproben auf agglutinierende Antikörper gegen STMC mit Objektträgerschnellagglutination untersucht werden (10 Stadttauben inbegriffen).

Tab.14: Serologische Befunde im Vergleich zu den Aussagen der Taubenhalter über Salmonellenproblembestände

	a	b	c	Σ	Sta.	Σ
AK Σ	27- 8 35	12- 2 14	3- 5 8	42-15 57	2	59
keine AK Σ	61-15 76	16- 4 20	12- 3 15	89-22 111	8	119
Σ	111	34	23	168	10	178

1. Zahl = Anzahl der Reisetauben - 2. Zahl = Anzahl der Rassetauben; a = Problembestand; b = kein Problembestand; c = keine Angaben über den Bestand; Sta. = Stadttauben; AK = Antikörper;

57 Proben der 168 Reise- und Rassetauben (33,9%) wiesen Antikörper auf. 111 Tauben stammten aus Problem-Betrieben (a). Von diesen Tieren wiesen 35 Antikörper auf. 36 Tauben kamen aus Betrieben, die keine Probleme mit Salmonellen hatten (b). Von diesen Tieren wiesen 14 Antikörper auf.

Tab.15: Serologische Befunde und Salmonellenisolate

	N= 38; S+	N=130; S-	E=168
AK	22 - 6	20 - 9	
Σ	28	29	57
keine AK	8 - 2	81 - 20	
Σ	10	101	111

S+ = STMC-Nachweis; S- = kein Nachweis von STMC;
s. Tab.14

Aus 38 Tieren konnte STMC isoliert werden, davon wiesen 28 Tiere (= 73,7%) Antikörper im Serum auf.

Die bakteriologische Untersuchung der 10 Tauben, die keine AK aufwiesen, ergab in den Organen 2x hochgradige, 1x mittelgradige und 4x geringgradige Keimzahlen an Salmonellen. Außerdem konnte dieser Keim bei 1 Tier massenhaft in den Organen und im Gelenk und bei 2 Tieren in den Gelenken als L-Form isoliert werden. 5 von 7 Tauben, bei denen nur L-Formen von STMC aus der Gelenkflüssigkeit isoliert wurden, wiesen AK gegen STMC auf.

Von 32 Tauben, die an Arthritis litten, konnte in 21 Fällen eine Blutprobe genommen werden. 18 Tiere wiesen Antikörper gegen STMC im Serum auf.

4.5. Antibiotogramme

Es wurden 73 Stämme von Salmonellen und 66 Stämme von E.coli im Resistenztest untersucht.

Tab.16: Anzahl der empfindlichen Stämme von STMC und E.coli gegenüber verschiedenen Antibiotika

	Salmonellen	E.coli
Doxycyclin	68 - 93,1%	23 - 34,8% 1 TP
Chloramphenicol	72 - 98,6%	39 - 59,1% 1 TP
Amoxycyclin	70 - 95,9%	22 - 33,3%
Neomycin	73 - 100,0%	50 - 75,7% 1 TP
Polymyxin B	72 - 98,6%	54 - 81,8%
Furoxon	72 - 98,6%	43 - 65,1% 1 TP
Sulfonamide	57 - 78,1%	13 - 19,7%

TP = Teilpopulation;

STMC erwies sich als überwiegend empfindlich für Chloramphenicol, Neomycin, Polymyxin B und Furoxon. Fallende Empfindlichkeit zeigte sich bei Amoxycillin, Doxycyclin und Sulfonamiden. E.coli hatte deutlich höhere Resistenzraten als STMC. Die Empfindlichkeit fiel ab von Polymyxin B (81,8% der Stämme waren empfindlich) über Neomycin, Furoxon, Chloramphenicol, Doxycyclin, Amoxycillin bis zu Sulfonamiden (19,7% der Stämme waren empfindlich).

5. DISKUSSION

In der vorliegenden Arbeit wurden eine überraschend hohe Zahl von bakteriellen L-Formen isoliert. Insgesamt wurden aus 637 Proben 325 L-Formkulturen erhalten, die folgenden Bakteriengenera bzw. -familien angehörten: *Salmonella* (ausschließlich STMC), *Escherichia* (*E.coli*), *Citrobacter*, *Yersinia* (*pseudotuberculosis*), *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Streptococcaceae*, *Micrococcaceae* und *Bacillus*. Das würde die Behauptungen von HIJMANS et al. (1969) bestätigen, daß viele, wenn nicht die meisten Bakterienarten in der Lage sind, L-Formen zu bilden.

Die Koloniemorphologie der L-Formen war sehr variabel und glich der verschiedener Beschreibungen in der Literatur. Typische Spiegelformen waren nur in wenigen Fällen zu beobachten. Manchmal konnten elterliche und L-Kolonien in enger Nachbarschaft auf den L-Platten festgestellt werden. Die elektronenmikroskopischen Aufnahmen bestätigten wanddefekte Formen.

Die meisten in vivo induzierten L-Formen sind, wie von SEARS et al. (1987) und LEVINA et al. (1983) beobachtet, instabil. Die aus den Tauben isolierten L-Formen wurden sowohl aus frisch getöteten als auch aus gestorbenen Tieren gewonnen. Das weist darauf hin, daß sie in vivo entstanden sind. Während aus der Literatur die in vitro-L-Form-Induktion gut bekannt ist, ist über in-vivo-Induktion nur wenig berichtet worden. Als Hauptfaktor für die in-vivo-Induktion gelten Antibiotika, insbesondere diejenigen, die eine Wandbildung hemmen (SEARS et al., 1987; GODZESKI et al., 1967). Neben der Induktion durch Antibiotika dürften in vivo Immunprozesse und Vorgänge, die mit der unspezifischen Keimabwehr des Wirtsorganismus zusammenhängen, eine Rolle spielen. So ist es denkbar, daß die Interaktion eines eindringenden Keimes mit Antikörpern und Komplement, Phagozyten, Lysozym und anderen Enzymen zur Bildung von L-Formen beiträgt (McGEE & WITTLER, 1969). Diese Autoren bestätigen weiterhin, daß L-Formen längere Zeit in vivo

überleben, aber nicht die gesamte Zeit über isoliert werden können. L-Formen können durch Toxinproduktion oder Reversion pathogen wirken. LEVINA et al. (1983) zeigen am Beispiel von Lederzecken (*Ornithodoros moubata*), die mit *Listeria monocytogenes* und *Salmonella typhimurium* infiziert werden, daß in vivo eine Induktion in die L-Form und auch eine Reversion in die parentale Form stattfinden kann. Infektionen mit L-Form oder parentaler Form führen während des größeren Versuchszeitraumes zur gleichzeitigen Ausscheidung beider Formen. Dies konnte auch bei 8,5% der Tauben festgestellt werden. 12% der Isolate wurden nur als L-Form des betreffenden Keimes isoliert. Dabei kann jedoch nicht ausgeschlossen werden, daß zu einem früheren Zeitpunkt beide Formen gleichzeitig vorhanden waren.

Da bekannt ist, daß Taubenzüchter mit und ohne tierärztliche Beratung häufig Antibiotika (auch in subtherapeutischen Dosen) anwenden, ist neben den generell vorhandenen Induktionsmechanismen eine vermehrte L-Form-Induktion durch Antibiotika wahrscheinlich.

L-Formen sind wegen des Wandverlustes weniger antigen und daher im Regelfall auch weniger pathogen als ihre parentale Form. Wie in den vorliegenden Untersuchungen gezeigt werden konnte, kamen L-Formen ohne klinische Symptome in 161 untersuchten Tauben-Gelenken vor, in acht Fällen als STMC. Vielfach wurden gleichzeitig parentale Formen in den Organen und L-Formen in den Gelenken festgestellt. Es muß daher angenommen werden, daß die Gelenkbesiedelung mit L-Formen hämatogen stattgefunden hat. Ferner muß vermutet werden, daß nur in den Fällen, in denen in den Gelenken ausschließlich L-Formen vorhanden sind, klinische Symptome ausbleiben. Da jedoch parentale Formen von STMC in vielen Fällen in den Organen vorhanden waren, erklären sich die bei den Sektionen festgestellten Nephropathien, Hepatopathien und Enteritiden. Nach Institutserfahrung nehmen Gelenkserkrankungen bei Rezidivfällen von Taubensalmonellose zu. Dementsprechend werden auch vermehrt L-Formen aus den Gelenken isoliert.

Der Nachweis von L-Formen auf der Vitellinmembran des Dotters spricht für eine hämatogene Absiedelung des Erregers im Ovar. Es ist in drei Fällen gelungen, aus Bruteiern L-Formen von Salmonellen zu isolieren. Ein betroffenes Muttertier konnte ebenfalls untersucht werden und beherbergte in geringer Keimzahl vollbewandete STMC in den Organen.

Die epidemiologische Bedeutung der L-Formbesiedelung in Gelenken und Bruteiern ist noch nicht vollständig abzusehen. Da aber solche Tauben als klinisch gesund angesehen werden, eine Kotuntersuchung im Regelfall keine Salmonellen aufzeigt, die Tiere aber u.U. auf Ausstellungen und an Wettflügen teilnehmen oder in andere Bestände verbracht werden, sollte die Möglichkeit von Keimeinschleppung und Keimverbreitung nicht unterschätzt werden. Aufgrund der dadurch entstehenden Belastungen der Tiere ist es denkbar, daß die L-Form in die parentale Form revertiert wird (vgl. SHARP, 1970). Die Erreger erreichen dabei in der Regel die volle Pathogenität wieder, so daß die Tiere dann erkranken oder wenigstens den betroffenen Keim ausscheiden. Die vertikale Übertragung der L-Form über infizierte Eier ist ähnlich zu beurteilen. Es ist allerdings nicht bekannt, wie sich eine L-Formbesiedelung der Vitellinmembran auf den sich entwickelnden Embryo auswirkt. Da aber nach OCHSENHIRT (1974) selbst vollbewandete Salmonellen bei entsprechend geringer Keimzahl den Embryo nicht regelmäßig zum Absterben bringen, muß damit gerechnet werden, daß Taubenembryonen mit L-Form-Infektionen generell überleben. In den geschlüpften Küken kann es dann zur Reversion mit nachfolgender Erkrankung kommen, zumal die postnatale Periode für das Küken in der Regel eine kritische Zeit darstellt.

Durch Eiübertragung der Keime kann innerhalb einer Vogelpopulation eine geschlossene Infektkette entstehen, ohne daß exogene Vektoren dazu beitragen. Dies gilt schon für vollbewandete Bakterien, wahrscheinlich aber noch mehr für die weniger pathogene L-Form. Eiübertragene Salmonellen siedeln sich wahrscheinlich auch bei Tauben bereits pränatal im Verdauungstrakt als erster Keim an. Da sich die Darmflora autochthon postnatal aufbaut, hat das

zur Folge, daß dieser Keim integriert wird. Das erklärt auch die Persistenz, die nach Eiübertragung möglicherweise lebenslang andauert. Analoge Verhältnisse ergeben sich beim Haushuhn. BUXTON & PHILLIPS (1980) zeigen, daß L-Formen bei Hühnern epidemiologisch wichtig sein können und wesentlich für die Verbreitung eines Krankheitserregers angesehen werden. Sie finden in klinisch gesunden Hühnern L-Formen von Staphylokokken.

Aus der vorliegenden Literatur geht nicht hervor, inwieweit L-Formen direkt am Übertragungsprozess beteiligt sind. Aber es ist erwiesen, daß die Umwandlung in die bakterielle Form eine Möglichkeit für den Keim darstellt, längere Zeit im Wirtsorganismus zu verweilen, ohne wirksame Abwehrmechanismen hervorzurufen oder krankmachende Eigenschaften zu entwickeln. (BUCHANAN et al., 1983; BUXTON & PHILLIPS, 1980; WITTLER, 1965). Diese Fähigkeit der L-Formen, wirtseigene Abwehreinrichtungen nicht zu provozieren und nur minimale oder keine krankmachenden Eigenschaften zu entwickeln, dürfte dazu führen, daß die L-Form selbst kaum humorale Antikörper provoziert. Bei eiübertragenen L-Formen ist sogar mit Immuntoleranz zu rechnen. Die serologische Untersuchung der lebend eingesandten Tauben hat gezeigt, daß nur 73,7% der Tiere, bei denen STMC isoliert wurde, auch entsprechende Antikörper im Serum hatten. Prinzipiell ist anzunehmen, daß STMC bei Besiedelung des Verdauungstraktes ohne Durchbrechen der Darmschranke wohl nur gelegentlich in der Lage ist, Antikörperbildung hervorzurufen. Nach Septikämie und Organabsiedelung ist jedoch damit zu rechnen, daß Antikörper auftreten. Da fünf von sieben Tauben, die STMC nur als L-Form beherbergten, Antikörper im Serum hatten, ist auch dies ein weiterer Hinweis dafür, daß zu einem anderen Zeitpunkt auch vollbewandete Formen in diesen Tieren vorhanden waren und möglicherweise eine Septikämie verursacht haben.

Die Antigenität der Salmonellen beruht im wesentlichen auf Lipopolysacchariden, die in der Wand lokalisiert sind (LÜDERITZ et al., 1966). So ist bei Wandschäden damit zu rechnen, daß entweder keine oder nicht genug Antikörper vom Wirt gebildet werden, um sie bei einer Objektträgerschnellagglutination mit vorwiegend aus

Wandbestandteilen bestehenden Antigenen nachzuweisen. Das weitgehende Fehlen der Bakterienwand und damit der Antigenität muß als Ursache dafür diskutiert werden, daß L-Formen durch Immunprophylaxe mit vorwiegend O-Antigen-haltigen Vakzinen nicht erfaßt werden. Es kommt jedoch nach FREIMER (1963) zur Kreuzreaktion mit Antikörpern gegen Membrankomponenten von parentaler und L-Form. Aufgrund von Impfungen dürften aber überwiegend die Wandlipopolysaccharide eine Antikörperbildung provozieren, durch die dann die weitgehend wandlosen L-Formen nicht erfaßt werden. Analoge Verhältnisse stellen sich bei der Antibiotika-Therapie ein, die auf eine unterschiedliche Sensitivität von parentaler und L-Form trifft (MONTGOMERIE et al., 1966; ROBERTS, 1967).

Die Kultur der L-Formen wurde mit den beschriebenen Medien durchgeführt. Schwierigkeiten traten immer dann auf, wenn das Material durch parentale Formen oder andere Bakterien verunreinigt war. Da L-Formen in vivo häufig instabil sind, können sie schnell revertieren und u.U. das Erkennen von ursprünglichen L-Kolonien erschweren. Wie von HIJMANS et al. (1969) beschrieben, können parentale und L-Formen nebeneinander vorkommen. Dies gilt besonders für Bacillen mit Tendenz, den gesamten Nährboden zu überwuchern. Bacillen, die zur Normalflora der Tauben zählen, sind durch ihre Sporenbildung hoch widerstandsfähig gegen Umweltfaktoren und sind häufig in staubigem Gefieder zu finden. Daher sind in der vorliegenden Arbeit Bacillussporen die häufigste Ursache von Verunreinigungen gewesen. Die Differenzierung zwischen Bacillus als Verunreiniger und Bacillus als L-Form war nur durch den beschriebenen Nachweis des fortschreitenden grampositiven Wandaufbaus möglich. Alle Fälle von Bacillen, die nur auf L-Platten wuchsen, aber bereits auf der Originalplatte nach fünf bis sieben Tagen eine vollständige Wand aufwiesen, wurden nicht den L-Formen zugerechnet. Nach HARTMANN (1981) konnten durch Untersuchungen mit mehreren Stämmen bei Hühnerküken weder klinische, noch pathologisch-anatomische, noch histologische Veränderungen nachgewiesen werden.

Unter den als primär pathogen anzusehenden Enterobacteriaceen wurde bei einem Tier *Yersinia pseudotuberculosis* als L-Form in den Gelenken und als parentale Form in den Organen isoliert. Der Nachweis von L-Formen von *E.coli* und *Citrobacter* spp. zeigt, daß auch diese als fakultativ pathogen geltenden Bakterien zur L-Formbildung nicht nur befähigt, sondern im Fall von *E.coli* diese auch nicht selten zu sein scheint.

Unter den nicht den Enterobacteriaceen zuzuordnenden gramnegativen Stäbchen fällt das Vorkommen von *Acinetobacter calcoaceticus* in dieser Untersuchung besonders auf. Dieser Keim wird nach Institutserfahrung relativ häufig aus verschiedenen Vogelarten isoliert und kommt auch nicht selten in Bruteiern auf der Vitellinmembran vor. Aufgrund der hier vorliegenden Untersuchungsergebnisse muß betont werden, daß *Acinetobacter calcoaceticus* auch relativ häufig als L-Form in vivo bei der Taube vorkommt. Über die Bedeutung für das sich entwickelnde Ei, für Jungtiere oder Alttiere ist in der zugänglichen Literatur nichts bekannt.

Die Isolierung von L-Formen von *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Alcaligenes* und der häufigen Isolate von Streptokokken, Micrococcaceae und *Bacillus* sind als Hinweis dafür anzusehen, daß bei der Taube eine L-Form-Induktion für ein weites Spektrum der verschiedenen Bakterien in vivo tatsächlich stattfindet.

Die Tauben und Taubenembryonen sind pathologisch-anatomisch untersucht worden. Es ist jedoch nicht möglich, die gefundenen Veränderungen den Bakterienisolaten eindeutig zuzuordnen (s. Tab.3). Am besten sind noch die Tiere zu beurteilen, aus denen STMC isoliert wurde. Die Veränderung durch Salmonellen sind vor allem im akuten Fall wenig spezifisch, sie entsprechen jedoch den in der Literatur aufgeführten Veränderungen. Bei allen anderen Bakterienisolaten wurde eine Zuordnung zu bestimmten Organveränderungen unterlassen, zumal eine histopathologische Untersuchung nicht durchgeführt wurde.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß L-Formen bei Tauben generell häufig vorkommen. Für die Epizootiologie der Taubensal-

monellose ist bedeutsam, daß STMC als L-Form sowohl in Gelenken als auch in Eiern nachzuweisen ist. Das Vorkommen dieser L-Formen erklärt sowohl Therapieresistenz als auch das Versagen von Impfstoffen. Es wird die Aufgabe künftiger Untersuchungen sein, über die Therapiemöglichkeiten gegen L-Formen und über ihr Verhalten nach Impfungen weitere Informationen zu erarbeiten.

6. ZUSAMMENFASSUNG

L-Formen sind Bakterien, die ihre Wand vollständig oder größtenteils verloren haben. Sie können durch Antibiotikaeinwirkung und wirtseigene Abwehrkräfte, z.B. Phagenaktivität, entstehen. Durch den Verlust der Zellwand sind L-Formen weniger pathogen und können auch längere Zeit persistieren, ohne Reaktionen des Wirtes hervorzurufen. L-Formen sind in der Lage, in vivo zu entstehen und sich auch in vivo zur parentalen Form zurückzuverwandeln.

Aus 221 Taubenbeständen kamen 587 Proben (316 Tauben und 271 Taubeneier) zur Untersuchung. Als Vergleich wurden 25 Stadttauben und 25 Stadttaubeneier herangezogen, bei denen eine Antibiotikabehandlung auszuschließen war. Aus 79 Proben (75 Tauben und 4 Eiern) konnte *Salmonella typhimurium* var. *copenhagen* (STMC) isoliert werden, die Stadttauben beherbergten keine nachweisbaren Salmonellen. 33,9% von 168 untersuchten Serumproben wiesen agglutinierende Antikörper gegen STMC auf. 73,7% der Tauben, aus denen STMC isoliert werden konnte, wiesen entsprechende Antikörper auf. 325 der Bakterienisolate (ca. 40%) wurden in der L-Form isoliert:

14x STMC, 55x *E.coli*, 1x *Yersinia*, 2x *Citrobacter*, 1x *Aeromonas*, 1x *Pseudomonas*, 19x *Acinetobacter*, 4x *Alcaligenes*, 46x Streptokokken, 83x Micrococcaceen, 99x *Bacillus*.

Diese L-Formen wurden teilweise zusammen mit der parentalen Form aus den Tieren isoliert. Bei 161 makroskopisch unverändert erscheinenden Taubengelenken wurden L-Formen festgestellt, davon in 8 Fällen Salmonellen.

Das Vorkommen der L-Formen erklärt Therapieresistenz und Versagen von Impfstoffen. Die Häufigkeit von L-Formen ist möglicherweise als Hinweis auf eine inkonsequente Antibiotikaaanwendung in der Taubenhaltung zu bewerten.

SUMMARY

Isolation of L-Forms from Pigeons (*Columba livia*, Gmel. 1789) and Their Eggs with Emphasis on *Salmonella typhimurium* var. *copenhagen*

L-forms are bacteria which have lost their wall totally or for the most part. They can result from the activities of antibiotics and host defense mechanisms, in particular phage activity. By the losing of the cell wall, L-forms are less pathogenic and are able to persist longer without triggering host reactions. L-forms are able to develop in vivo, and also to transverse into the parental form in vivo.

The study consisted of 587 samples (316 pigeons and 271 pigeon eggs) out of 221 pigeon flocks. As a comparison, 25 free living urban pigeons and 25 eggs from those pigeons were used because any antibiotic treatment of these could be excluded. From 79 samples (75 pigeons and 4 eggs) *Salmonella typhimurium* var. *copenhagen* (STMC) was isolated, whereas the urban pigeons did not harbour any traceable salmonella. Out of 168 serum samples investigated, 33.9% showed agglutinating antibodies against STMC. Corresponding antibodies could only be demonstrated in 73.7% of the pigeons with a STMC isolate. 325 of the bacterial isolates (ca. 40%) were found as L-forms:

14x STMC, 55x *E. coli*, 1x *Yersinia*, 2x *Citrobacter*, 1x *Aeromonas*, 1x *Pseudomonas*, 19x *Acinetobacter*, 4x *Alcaligenes*, 46x *Streptococcaceae*, 83x *Micrococcaceae*, 99x *Bacillus*. Some of these L-forms were isolated together with the parental form from the animals. In 161 cases of macroscopically unchanged pigeon joints, L-forms could be demonstrated, 8 of which were salmonella.

The occurrence of L-forms explains resistance to therapy and the failure of vaccines. The high frequency of L-forms is probably an indication of an inconsequential use of antibiotics in managing pigeon diseases.

RESUMEN

Aislamiento de formas "L" de palomas (*Columba livia*, Gmel. 1789) y de sus huevos considerando especialmente *Salmonella typhimurium* var. copenhagen.

Formas "L" son bacterias que perdieron su pared celular completamente o por lo menos la mayor parte de ella. Eso puede ser causado por influencia de antibióticos, defensa inmunológica propia del huésped o de la actividad de bacteriófagos respectivamente. Por la pérdida de la pared celular las formas "L" son menos patógenas y pueden persistir a largo plazo sin provocar reacciones del huésped. Formas "L" son capaces de formarse "in vivo" y pueden retransformarse a la forma completa también "in vivo".

Se examinaron 587 muestras (316 palomas y 271 huevos) provenientes de 221 palomares. Como testigos se usaron 25 palomas y 25 huevos de ellas, que viven libremente en la ciudad de Munich y de las cuales se pueden suponer que nunca recibieron tratamiento con antibiótico o quimioterapéutico. *Salmonella typhimurium* var. copenhagen (STMC) se aislaron de 79 muestras (75 palomas y 4 huevos), las palomas libres urbanas no contuvieron salmonelas detectables. 33,9% de 168 sueros mostraron anticuerpos aglutinantes contra STMC. 73,7% de las palomas infectadas con STMC tuvieron los anticuerpos correspondientes. 325 cepas bacterianas aisladas (m/m 40%) crecieron en forma "L":

14 x STMC, 55 x *Escherichia coli*, 1 x *Yersinia*, 2 x *Citrobacter*, 1 x *Aeromonas*, 1 x *Pseudomonas*, 19 x *Acinetobacter*, 4 x *Alcaligenes*, 46 x *Streptococcus*, 83 x *Micrococcus*, 99 x *Bacillus*.

Se aislaron las formas "L" parcialmente junto con sus formas completas de las aves. De 161 articulaciones macroscópicamente no alteradas se aislaron formas "L", de las cuales 8 casos eran *Salmonella*.

La existencia de formas "L" puede ser la razón de resistencia terapéutica y fracaso de vacunaciones. La frecuencia de formas "L" se puede interpretar como consecuencia de abuso incontrolado de antibióticos en colombicultura.

7. Literaturverzeichnis

- AMANO, T., Y. SEKI, K. FUJIKAWA, S. KASHIBA, T. MORIOKA, S. ICHIKAWA (1956)
The Isolation and Characterisation of Protoplasts from *Escherichia coli* B with the treatment of Leucocytes extract
Med. J. Osaka Univ. 7: 245-256
- ANDERSON, D.R. (1969)
Ultrastructural Studies of Mycoplasmas and the L-Phase of Bacteria. In Hayflick, L. (ed.), The Mycoplasmatales and the L-Phase of Bacteria. North-Holland Publishing Company-Amsterdam, pp. 365-402
- BEAMAN, B.L. (1982)
Nocardiosis: Role of the Cell Wall-Deficient State of Bacteria. In Dominique, G.J. (ed.), Cell Wall-Deficient Bacteria: Basic Principles and Clinical Significance. Addison-Wesley Publishing Co., Inc., Reading, Mass, pp. 231-255
- BEAMAN B.L., S.M. SCATES (1981)
Role of L-Forms of *Nocardia caviae* in the Development of Chronic Mycetomas in normal and immunodeficient Murine Models
Infect. Immun. 33 (3): 893-907
- BERGEY'S MANUAL (1986)
Bergey's Manual of Systematic Bacteriology
N.R. KRIEG, J.G. HOLT (Vol. 1)
P.H.A. SNEATH, N.S. MAIR, M.E. SHARPE, J.G. HOLT (Vol. 2)
Williams & Wilkins, Baltimore
- BIBEL, D.J., J.W. LAWSON (1972)
Scanning Electron Microscopy of L-Phase Streptococci. II. Growth in Broth and upon Millipore Filters
Can. J. Microbiol. 18: 1179-1184
- BIRDSELL, D.C., E.H. COTA-ROBLES (1967)
Production and Ultrastruktur of Lysozyme and Ethylenediamine-tetraacetate-Lysocyme Spheroplasts of *Escherichia coli*
J. Bacteriol. 91: 427-437
- BOVEN, C.P.A.van, H.L. ENSERING, W. HIJMANS (1968)
Size Determination by the Filtration Method of the Reproductive Elements of Group A Streptococcal L-Forms
J. Gen. Microbiol. 52: 403-412
- BRAUDE, A.J. (1970)
Production of Bladder Stones by L-Forms
Ann. N.Y. Acad. Sci. 174: 896-902
- BRORSON, J.-E., M. LUNDHOLM, S. SEEBERG (1973)
L-Colony Produktion by Different Strains of *Staphylococcus aureus* in the Absence of Antibiotics
J. Infect. Dis. 128, No.3: 335-339

- BRORSON, J.-E., M. LUNDHOLM, S. SEEBERG (Preprint)
Properties of Some Staphylococcus aureus Strains Associated with
Spontaneous L-Phase Transformation
Scand. J. Infect. Dis. 1-4
- BUCHANAN, A.M., J.L. SCOTT (1984)
Actinomyces hordeovulneris, a canine pathogen that produces
L-phase variants spontaneously with coincident calcium deposition
Am. J. Vet. Res. 45, No.12: 2552-2560
- BUCHANAN, A.M., B.L. BEAMAN, N.C. PEDERSEN, M. ANDERSON, J.L.
SCOTT (1983)
Nocardia asteroides Recovery from a Dog with Steroid- and
Antibiotic-Unresponsive Idiopathic Polyarthrititis
J. Clin. Microbiol. 18, No.3: 702-708
- BUXTON, A., J.E. PHILLIPS (1980)
Isolation of staphylococcal L-phase variants from the blood and
egg yolks of normal chickens
Res. Vet. Sci. 29: 51-56
- CAREY, W.F., L.H. MUSCHEL, L.S. BARON (1960)
The Formation of Bacterial Protoplasts in vivo
J. Immun. 84: 183-188
- CLASENER, H.A.L., H.L. ENSERING, W. HIJMAN (1970)
Persistence in Mice of the L-Phase of Three Streptococcal Strains
Adapted to Physiological Osmotic Conditions
J. Gen. Microbiol. 62: 195-202
- COLE, R.M. (1971)
Some Implications of the Comparative Ultrastructure of Bacterial
L-Forms. In MADOFF S. (ed.), Mycoplasmas and L-Forms of
Bacteria. Gordon and Breach Scientific Publishers, New York,
pp. 49-83
- CORFIELD, P.S., D.G. SMITH (1968)
Microtubular Structures in Group D Streptococcal L-Forms
Arch. Microbiol. 63: 356-361
- CORFIELD, P.S., D.G. SMITH (1970)
Ultrastructural Changes during Propagation of a Group D Strepto-
coccal L-Form
Arch. Microbiol. 75: 1-9
- CRAWFORD, Y.E., P.F. FRANK, B. SULLIVAN (1958)
Isolation and Reversion of L-Forms of beta-hemolytic Streptococci
J. Infect. Dis. 102: 44-52
- DALTON, H.P., M.R. ESCOBAR, M.J. ALLISON (1971)
Correlation of Staphylococcal Bacteriophage Types to L-Form Colony
Production
Infect. Immun. 3, No.6: 774-776

- DASINGER, B.L., E. SUTER (1962)
Endotoxic Activity of L Forms Derived from Salmonella paratyphi B
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 111: 399-400
- DAVIS, S.D., D. GEMSA, A. IANNETTA, R.J. WEDGWOOD (1968)
Kinetics of Serum Bactericidal Action and Some Properties of
Serum Spheroplasts. In GUZE, L.B. (ed.), Microbial Protoplasts,
Spheroplasts and L Forms. Baltimore, Williams & Wilkins,
pp. 261-269
- DIENES, L. (1938)
Further Observations on the L Organism of Klieneberger
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 39: 365-367
- DIENES, L. (1950)
Isolation of L Type Cultures from Clostridia
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 75: 412-415
- DIENES, L. (1967)
Morphology and Reproductive Process of the L Forms of Bacteria.
1. Streptococci and Staphylococci
J. Bacteriol. 93: 693-702
- DIENES, L. (1968)
Morphology and Reproductive Process of Bacteria with Defective
Cell Wall. In GUZE, L.B. (ed.), Microbial Protoplasts, Spheroplasts
and L Forms. Baltimore, Williams & Wilkins, pp. 74-93
- DIENES, L., S. BULLIVANT (1967)
Comparison of the Morphology of PPLO and L-Forms of Bacteria
with Light and Electron Microscopy
Ann. N.Y. Acad. Sci. 143 (1): 719-733
- DIENES, L., S. BULLIVANT (1968)
Morphology and Reproductive Process of the L-Forms of Bacteria.
II. Comparative Study of L-Forms and Mycoplasmas with the
Electron Microscope
J. Bacteriol. 95: 672-687
- DIENES, L., S. MADOFF (1966)
Development and Growth of L Forms of Bacteria and PPLO on
Membrane Filters
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 121: 334-339
- DIENES, L., H.J. WEINBERGER (1951)
The L-Forms of Bacteria
Bact. Rev. 15: 245-288
- DIENES, L., B.M. BANDUR, S. MADOFF (1964)
Development of L-Type Growth in Neisseria gonorrhoeae Cultures
J. Bacteriol. 87: 1471-1476
- DIENES, L., S. MADOFF, S. BULLIVANT (1968)
Study of L-Forms as seen in Thin Section with the Electron Microscope.
In Caravano R. (ed.), Current Research on Group A

Streptococcus. Excerpta Medica Foundation, New York, pp. 342-345

DIENES, L., H.J. WEINBERGER, S. MADOFF (1950)

The Transformation of Typhoid Bacilli into L Forms Under Various Conditions

J. Bacteriol. 59: 755-564

EDMAN, L.A., L.H. MATTMAN (1961)

L variation in *Pseudomonas aeruginosa* induced by Antibiotics

Bact. Proc. p. 82

FASS, R.J. (1973)

Morphology and Ultrastructure of Staphylococcal L Colonies: Light, Scanning, and Transmission Electron Microscopy

J. Bacteriol. 113: 1049-1053

FEINGOLD, D.S., J.N. GOLDMAN, H.M. KURITZ (1968)

Locus of the Lethal Event in the Serum Bactericidal Reaction

J. Bacteriol. 96: 2127-2131

FODOR, K., G. HADLACZKY, L. ALFÖLDI (1975)

Reversion of *Bacillus megaterium* Protoplasts to the Bacillary Form

J. Bacteriol. 121: 390-391

FREIMER, E.H. (1963)

Studies of L Forms and Protoplasts of Group A Streptococci.

2. Chemical and Immunological Properties of the Cell Membrane

J. Exp. Med. 117: 377-399

FREIMER, E.H., R.M. KRAUSE, M. McCARTY (1959)

Studies on L Forms and Protoplasts of Group A Streptococci.

1. Isolation, Growth, and Bacteriologic Characteristics

J. Exp. Med. 110: 853-874

GARVIN, D.F., L.H. MATTMAN (1967)

Immunofluorescent Identification of Mycobacterial Variants

Bact. Proc. p. 101

GERLACH, H. (1969)

Bruthygiene beim Geflügel

Wien. Tierärztl. Mschr. 3: 120-126

GERLACH, H. (1972)

Salmonellen in der L-Form bei Tauben. Arbeitstagung der Fachgruppe Geflügelkrankheiten der DVG, Berlin

GHOSH, B.K., R.G.E. MURRAY (1967)

Fine Structure of *Listeria monocytogenes* in Relation to Protoplast Formation

J. Bact. 93: 411-426

GILPIN, R.W., F.E. YOUNG, A.N. CHATTERJEE (1973)

Characterization of a Stable L-Form of *Bacillus subtilis* 168

J. Bacteriol. 113, No.1: 486-499

- GODZESKI, G.W., G. BRIER, J.O., FARRAN (1966)
The Interaction of Antibiotics, Bacteria, and the Bacterial
L-Phase in vivo 2. Conference in Biology of the Mycoplasmas
New York, Academy of Sciences
- GODZESKI, C.W., A.V. FEW, J.D. FARRAN (1967)
The Interaction of Antibiotics, Bacteria and the Bacterial
L-Phase in vivo
Ann. N.Y. Acad. Sci. 143: 760-777
- GOLANOV, V.S. (1986)
Clinical Significance of L-Forms of Mycobacteria in Patients with
Destructive Tuberculosis of the Lungs
Probl. Tuberk. 0 (9): 25-28
- GOODER, H., W.R. MAXED (1961)
External Factors Influencing Structure and Activities of
Streptococcus pyogenes
Soc. Gen. Microbiol. Sympos. 77: 151-173
- GREEN, M.T., P.M. HEIDGER, J.R., G. DOMINGUE (1974 A)
Proposed Reproductive Cycle for a Relatively Stable L-Phase Vari-
ant of Streptococcus faecalis
Infection and Immunity 10, No.4: 915-927
- GREEN, M.T., P.M. HEIDGER, J.R., G. DOMINGUE (1974 B)
Demonstration of the Phenomena of Microbial Persistence and Re-
version with Bacterial L-Forms in Human Embryonic Kidney Cells
Infection and Immunity 10, No.4: 889-914
- GULEVSKAYA, S.A., L.N. KATZ, Y.V. VULFOVICH und andere (1977)
Study of the L-Forms of Streptococcus in the Scanning Electron
Microscope. 2. Structural Elements of the L-Colonies at Different
Growth Phases. (Russ.), Zh. Mikrobiol. (Mosk.) 2: 22. In Zbl.
Bakt. Hyg., I. Abt. Ref. Bd. 256, p. 209
- GUMPERT, J., U. TAUBENECK (1983)
Characteristic Properties and Biological Significance of Stable
Protoplast Type L-Forme. In Experientia Suppl. Vol. 46,
Protoplasts 1983. Birkhäuser pp. 227-241
- GUMPERT, J., I. ZIMMERMANN, U. TAUBENECK (1986)
Phage Adsorption and Productive Lysis in Stable Protoplast Type
L-Forms of Bacillus subtilis and Streptomyces hygroscopicus
J. Basic Microbiol. 26 (1): 15-25
- GUTMAN, L.T., J. SCHALLER, R.J. WEDGWOOD (1967)
Bacterial L-Forms in Relapsing Urinary-Tract Infection
Lancet. 1: 464-466
- GUTMAN, L.T., M. TURCK, R.G. PETERSDORF, R.J. WEDGWOOD (1965)
Significance of Bacterial Variants in Urine of Patients with
Chronic Bacteriuria
J. Clin. Invest. 44: 1945-1952

- HADLACZKY, G., K. FODOR, L. ALFÖLDI (1976)
Morphological Study of the Reversion to Bacillary Form of *Bacillus megaterium* Protoplasts
J. Bacteriol. 125, No.3: 1172-1179
- HARRIS, H. (1960)
Mobilisation of Defensive Cells in Inflammatory Tissue
Bact. Rev. 24: 3-14
- HARTMANN, J.B. (1981)
Erstbeschreibung psychrophiler aerober Sporenbildner des Genus *Bacillus* aviärer Herkunft
Diss. Med. Vet. München
- HATTEN, B.A., S.E. SULKIN (1966)
Intracellular Production of *Brucella* L-Forms. 2. Induction and Survival of *Brucella abortus* L Forms in Tissue Culture
J. Bacteriol. 91: 14-20
- HAYFLICK, L. (1965)
Tissue cultures and Mycoplasmas
Tex. Rep. Biol. Med. 23 (Suppl 1): 287-303
- HIJMANS, W., C.P.A. van BOVEN, H.A. CLASENER (1969)
Fundamental Biology of the L-Phase of Bacteria. In Hayflick L. (ed.), The Mycoplasmatales and the L-Phase of Bacteria.
Appleton-Century-Crofts, New York, pp. 67-143
- HIRSCH, I.G., B. STRAUSS (1964)
Studies on Heat-labile Opsonins in Rabbit Serum
J. Immun. 92: 145-154
- HOFSCHEIDER, P.H., H.H. MARTIN (1968)
Diversity of Surface Layers in *Proteus mirabilis*
J. Gen. Microbiol. 51: 23-33
- HUGH, R., E. LEIFSON (1953)
The Taxonomic Significance of Fermentative Versus Oxidative Metabolism of Carbohydrates by Various Gramnegative Bacteria
J. Bacteriol. 66: 24-26
- ISHCHANOVA, R.ZH., V.M. SEMENSOVA, V.M. NIFANT'EV, N.KH. KHASANOV (1986)
Properties of L-Culture of *Brucella*
Veterinariya, Moscow, USSR No.9: 30-32
- JENKIN, C.R. (1963)
The Effect of Opsonins on the Intracellular Survival of Bacteria
Brit. J. Exp. Path. 44: 47-57
- KAGAN, G. (1963)
The Mechanisms of L-Form Production in Same Pathogenic Species of Bacteria and their Reversion to Bacterial Forms. In Proceedings of the Conference on Heredity and Variability of Microorganisms

Moscow, Jan, 1962, Ansterdam, Excerpta Medica Foundation,
pp. 91-93

KAGAN, G. (1967)
The Results of some Comparative Experimental Investigations of
L-Forms of Bacteria and Mycoplasma
Ann. N.Y. Acad. Sci. 143: 734-748

KALMANSON, G.M., L.B. GUZE (1964)
Role of Protoplasts in Pathogenesis of Pyelonephritis
JAMA 190: 1107-1109

KALMANSON, G.M., E.G. HUBERT, J.Z. MONTGOMERIE, L.B. GUZE (1968)
Serum Bactericidal Activity against Protoplasts. In Guze, L.B.
(ed.), Microbial Protoplasts, Spheroplasts and L-Forms. The
Williams & Wilkins Co., Baltimore, Md., pp. 293-305

KANDLER, G., O. KANDLER (1955)
Ernährungs- und stoffwechselphysiologische Untersuchungen an
pleuropneumonieähnlichen Organismen und der L-Phase der Bakterien
Zbl. Bakt. (Orig.) 108: 383-397

KANDLER, O., G. KANDLER (1956)
Trennung und Charakterisierung verschiedener L-Phasentypen von
Proteus vulgaris
Z. Naturforsch. (B) 11: 252-259

KANDLER G., O. KANDLER, J. MÜLLER (1956)
Vergleichende Untersuchungen über den Nucleinsäuren- und
Atmungsstoffwechsel von Proteus vulgaris, dessen stabiler L-Phase
und den pleuropneumonie-ähnlichen Organismen
Arch. Mikrobiol. 24: 219

KARACHUNSKY, M.A., I.R. DOROZHKOVA, V.I. CHUKANOV, Yu.E. BALTA,
L.M. KYAZIMOVA (1986)
Rifampicin Effect on L-Transformation of Mycobacterial Population
in Patients with Destructive Tuberculosis of the Lungs
Probl. Tuberk. 0(9): 31-34

KAUFFMANN, F. (1934)
Über serologische und kulturelle Varianten der Paratyphus B- und
Mäusetyphus-Bacillen
Z. Hyg. 368: 116

KING, J.R., H. GOODER (1970 A)
Reversion to the Streptococcal State of Enterococcal Protoplasts,
Spheroplasts, and L-Forms
J. Bacteriol. 103: 692-696

KING, J.R., H. GOODER (1970 B)
Induction of Enterococcal L-Forms by the Action of Lysozyme
J. Bacteriol. 103: 686-691

KLIENEBERGER, E. (1935)
The Natural Occurrence of Pleuropneumonia-like Organisms in

apparent Symbiosis with *Streptobacillus moniliformis* and other Bacteria

J. Path. Bact. 40: 93-105

KÖSTERS, J. (1980)

Verlauf der Salmonellose in Broilerbeständen und Legehennenhaltung

Europ. Geflügelkonferenz der WPSA, Hamburg, 1: 172-177

KOVALENKO, I.V., I.R. DOROZHKOVA (1986)

Detection and Identification of L-Forms of Mycobacteria by Immunofluorescence

Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii No.6: 35-38

KUSAKA, I. (1967)

Growth and Division of Protoplasts of *Bacillus megaterium* and Inhibition of Division by Penicillin

J. Bacteriol. 94: 884-888

LANDMAN, O.E., (1968)

Protoplasts, Spheroplasts and L-Forms viewed as a Genetic System.

In GUZE, L.B. (ed.) Microbial Protoplasts, Spheroplasts and L-Forms. Williams & Wilkins, Baltimore, pp. 319-332

LANDMAN, O.E., A. FORMAN (1969)

Gelatin-induced Reversion of Protoplasts of *Bacillus subtilis* to the Bacillary Form: Biosynthesis of Macromolecules and Wall During Successive Steps

J. Bacteriol. 99, No.2: 576-589

LANDMAN, O.E., H.S. GINOZA (1961)

Genetic Nature of Stable L Forms of *Salmonella paratyphi*

J. Bacteriol. 81: 875-886

LANDMAN, O.E., R.A. ALTENBERG, H.S. GINOZA (1958)

Quantitative Conversion of Cell and Protoplasts of *Proteus mirabilis* and *Escherichia coli* to the L-Form

J. Bacteriol. 75: 567-576

LANDMAN, O.E., A. RYTER, C. FREHEL (1968)

Gelatin-induced Reversion of Protoplasts of *Bacillus subtilis* to the Bacillary Form: Electron-microscopic and Physical Study

J. Bacteriol. 96: 2154-2170

LEDERBERG, J., J. St. CLAIR (1958)

Protoplasts and L-Type Growth of *Escherichia coli*

J. Bacteriol. 75: 143-160

LEVINA, G.A., V.M. PODBORONOV, S.V. PROZOROVSKII, I.M.

GROKHOVSKAYA, K.N. SHLYGINA (1983)

Transformation of Bacteria to the L Form and Reversion within Argasid Ticks (*Listeria monocytogenes* and *Salmonella typhimurium* in *Ornithodoros moubata*)

Zhurnal Mikrobiologii Epidemiologii i Immunobiologii No.7: 47-51

- LISOWSKI, J., Z. WIECZOREK, M. KANTOCH (1959)
Phagocytosis of *Escherichia coli* Protoplasts
Nature (London) 183: 1828
- LITTLE, T.W.A., R.I. BOSBERRY (1973)
Experimental Infection of Bovine Udder with the L-Phase of
Staphylococcus aureus during Lactation
Res. Vet. Sci. 15: 111-115
- LÜDERITZ, O., A.M. STAUB, O. WESTPHAL (1966)
Immunochemistry of O and R Antigens of *Salmonella* and related
Enterobacteriaceae
Bact. Rev. 30: 192-255
- LYNN, R.J., G.J. HALLER (1968)
Bacterial L-Forms as Immunogenic Agents. In GUZE, L.B. (ed.)
Microbial Protoplasts, Spheroplasts and L-Forms, Williams &
Wilkins, Baltimore, pp. 270-278
- MADOFF, S. (1960)
Isolation and Identification of PPLO
Ann. N.Y. Acad. Sci. 79: 383-392
- MADOFF et al. (1966)
zitiert nach GERLACH (1972)
Salmonellen in der L-Form bei Tauben. Arbeitstagung der
Fachgruppe Geflügelkrankheiten der DVG, Berlin
- MADOFF, S., M.E. BURKE, L. DIENES (1967)
Induction and Identification of L-Forms of Bacteria
Ann. N.Y. Acad. Sci. 143: 755-759
- MATTMAN, L.H. (1964)
L Forms in Septicemia
Bact. Proc. p. 67
- MATTMAN, L.H., G. KARRIS (1966)
L and Transitional Forms in Meningitis
Bact. Proc. p. 49
- MATTMAN, L.H., P.E. MATTMAN (1965)
L Forms of *Streptococcus Faecalis* in Septicemia
Arch. Intern. Med. 115: 315-321
- MATTMAN, L.H., K. VAUGHAN (1959)
A Comparison of L Variation in *Salmonella* Case and Carrier
Strains
Bact. Proc. p. 35
- MATTMAN, L.H., L.H. TUNSTALL and H.W. ROSSMOORE (1961)
Induction and Characteristics of *Staphylococcal* L Forms
Can. J. Microbiol. 7: 705-713
- MAXED, W.R. (1968)
Observations on the Induction, Growth and Nature of *Streptococcal*

L-Forms. In CARAVANO, R. (ed.), Current Research on Group A Streptococcus. Excerpta Medica Foundation, New York, pp. 320-326

McDERMOTT, W. (1958)
Microbial Persistence
Yale J. Biol. Med. 30: 257-291

McGEE, Z.A., R.G. WITTNER (1969)
The Role of L-Phase and Other Wall-Defective Microbial Variants in Disease. In HAYFLICK, L. (ed.) The Mycoplasmatales and the L-Phase of Bacteria. North-Holland Publishing Company-Amsterdam, pp. 698-720

McGEE, Z.A., R.G. WITTNER, H. GOODER, P. CHARACHE (1971)
Wall-Defective Microbial Variants: Terminology and Experimental Design
J. Infect. Dis. 123, No.4: 433-438

McGEE, Z.A., H.B. RATNER, R.E. BRYANT, A.S. ROSENTHAL, M.G. KOENIG (1972)
An Antibody-Complement System in Human Serum Lethal to L-Phase Variants of Bacteria
J. Infect. Dis. 125, No.3: 231-242

McQUILLEN, K. (1958)
Lysis Resulting from Metabolic Disturbance
J. Gen. Microbiol. 18: 498-512

McQUILLEN, K. (1960)
Bacterial Protoplasts. In GUNZALES, I.C., R.Y. Stanier, (eds.), The Bacteria. New York, Academic Press, Vol. 1, pp. 249-359

MICHEL, M.F., W. HIJMANS (1960)
The Additive Effect of Glycine and Other Amino Acids on the Induction of the L-Phase of Group A β -haemolytic Streptococci by Penicillin and D-Cycloserine
J. Gen. Microbiol. 23: 35-46

MILLER, I.L., W. WIEBE, O.E. LANDMAN (1968)
Gelatin-induced Reversion of Protoplasts of Bacillus subtilis to the Bacillary Form: Photomicrographic Study
J. Bacteriol. 96: 2171-2174

MIMS, C.A. (1964)
Aspects of the Pathogenesis of Virus Diseases
Bact. Rev. 28: 30-71

MONTGOMERIE, J.Z., G.M. KALMANSON, L.B. GUZE (1966)
The Effects of Antibiotics on the Protoplast and Bacterial Forms of Streptococcus faecalis
J. Lab. Clin. Med. 68: 543-551

MORTIMER, E.A., Jr. (1965)
Production of L Forms of Group A Streptococci in Mice
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 119: 159-163

- MORTIMER, E.A., E.L. VASTINE (1967)
Production of Capsular Polysaccharide (Hyaluronic Acid) by L
Colonies of Group A Streptococci
J. Bacteriol. 94: 268-271
- MUSCHEL, L.H. (1968)
The formation of spheroplasts by immune substances and the
reactivity of immune substances against diverse rounded forms,
In GUZE, L.B. (ed.), Microbial Protoplasts, Spheroplasts and
L-Forms, Williams & Wilkins, pp. 19-29
- MUSCHEL, L.H., L.J. LARSEN (1970)
Effect of Hypertonic Sucrose Upon the Immune Bactericidal Reaction
Infect. Immun. 1, No.1. 51-55
- NESBITT, J.A., W.J. LENNARZ (1965)
Comparison of Lipids and Lipopolysaccharide from the Bacillary
and L Forms of Proteus P 18
J. Bacteriol. 89: 1020-1025
- NORRIS, J.R., H.M. PROCTOR (1969)
Crystalline Inclusions in Bacillus thuringiensis
J. Bacteriol. 98: 824-826
- O'MEARA, R.Q.A. (1931)
A Simple Delicate and Rapid Method of Detecting the Formation of
Acetylmethylcarbinol by Bacteria Fermenting Carbohydrate
J. Path. Bacteriol. 34:401-406
- OCHSENHIRT, B. (1974)
Lokalisation von Salmonella typhimurium im Hühnerembryo nach
experimenteller Eiinfektion
Diss. Vet. Med. München
- OSSERMAN, E.F., D.P. LAWLOR (1966)
Serum and urinary lysozyme (muraminidase) in monocytic and
monomyelocytic leukemia
J. Exp. Med. 124: 921-952
- OTTO, R. (1967)
Pseudokolonien auf serumhaltigen Nährböden und ihre Ähnlichkeit
mit Streptokokken L-Formen
Zbl. Bakt. (Orig.) 203: 215-227
- PACHAS, W.N., V.R. CURRID (1974)
L-form Induction, Morphology, and Development in Two Related
Strains of Erysipelothrix rhusiopathiae
J. Bacteriol. 119, No.2: 576-582
- PIETZSCH, O. (1981)
Salmonella. In BLOBEL, H., T. SCHLIESSER (eds.), Handbuch der
bakteriellen Infektionen bei Tieren, Band 3, Fischer, Stuttgart,
pp. 344-452

- POPE, L., D.P. YOLTON, L.J. RODES (1968)
Crystalline Inclusions in *Clostridium cochlearum*
J. Bacteriol. 96: 1859-1862
- RAZIN, S., M. ARGAMAN (1963)
Lysis of Mycoplasma, Bacterial Protoplasts, Spheroplasts and L-Forms by Various Agents
J. Gen. Microbiol. 30: 155-172
- RAZIN, S., O. OLIVER (1961)
Morphogenesis of the Mycoplasma and Bacterial L-Form Colonies
J. Gen. Microbiol. 24: 225-237
- RÖMPP, H. (1962)
Chemie Lexikon Band 2. Franckh'sche Verlagshandlung Stuttgart
S. 3644
- ROBERTS, R.B. (1966)
L Form of *Neisseria gonorrhoeae*
J. Bacteriol. 92: 1609-1614
- ROBERTS, R.B. (1967)
Production of L Forms of *Neisseria meningitidis* by Antibiotics
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 124: 611-615
- ROBERTS, R.B., R.G. WITTLER (1966)
The L Form of *Neisseria meningitidis*
J. Gen. Microbiol. 44: 139-148
- RYTER, A., O.E. LANDMAN (1964)
Electron Microscope Study of the Relationship between Mesosome Loss and Stable L-State (or Protoplast State) in *Bacillus subtilis*
J. Bacteriol. 88: 457-467
- SCHMITT-SLOMSKA, J., A. BOUE, R. CARAVANO (1966)
Infection chronique des cellules diploïdes humaines en culture par les formes L du streptocoque du group A
C. R. Acad. Sci. (Paris) 263: 1653-1655
- SCHMITT-SLOMSKA, J., E. SAQUET, R. CARAVANO (1967)
Group A Streptococcal L Forms. 1. Persistence among Inoculated Mice
J. Bacteriol. 93, No1: 451-455
- SCHMITT-SLOMSKA, J., R. CARAVANO, P. THOMAS, J. ROUX (1982)
Ultrastructural and Biochemical Characterisation of Cell Wall Deficient *Brucella* (L Forms)
Annales de Microbiologie 133 A (3): 377-386
- SCHÖNFELD, J.K., W.C. de BRUIJN (1973)
Ultrastructure of the Intermediate Stages in the Reverting L-Phase Organisms of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus faecalis*
J. Gen. Microbiol. 77: 261-271

- SCHUHARDT, V.T., T.W. HUBER, .L.M. POPE (1969)
Electron Microscopy and Viability of Lysostaphin-induced
Staphylococcal Spheroplasts, Protoplast-like Bodies, and
Protoplasts
J. Bacteriol. 97, No.1: 396-401
- SEARS, P.M. (1984)
Mündliche Mitteilung
- SEARS, P.M., M. FETTINGER, J. MARSH-SALIN (1987)
Isolation of L-Form Variants after Antibiotic Treatment in
Staphylococcus aureus Bovine Mastitis
JAVMA 191, No.6: 681-684
- SHARP, J.T. (1970)
Discussion of the L-Form Session
Ann. N.Y. Acad. Sci. 174, 1.2: 928-931
- SMALL, M.D. (1988)
Development of Sterility Test Media for the Propagation and
Detection of L-Forms in Pharmaceutical Products
Abst. Annu. Meet. Am. Soc. Microbiol. 88 (0): 296
- SQUIRES, C.H., D.L. HEEFNER, R.J. EVANS, B.J. KOPP, M.J. YARUS
(1984)
Shuttle Plasmids for Escherichia coli and Clostridium perfringens
J. Bacteriol. 159, No.2: 465-471
- STROMINGER, J.L., C.H. BIRGE (1965)
Nucleotide Accumulation Induced in Staphylococcus aureus by
Glycine
J. Bacteriol. 89: 1124-1127
- STROMINGER, J.L., K. IZAKI, M. MATSUHASHI, D.J. TIPPER (1967)
Peptidoglycan Transpeptidase and D-Alanine Carboxypeptidase:
Penicillin-sensitive Enzymatic Reactions
Fed. Proc. 26: 9-22
- TAUBENECK, U., J. GUMPERT (1967)
Some Notes on Gram-negative Bacteria with Experimentally Altered
Surface Structures
Folia Microbiol. (Praha), 12: 258-263
- TUNSTALL, L.H., L.H. MATTMAN (1964)
Coagulase Production by Staphylococci following Reversion from
the L Stage
Bact. Proc.---
- WEIBULL, C., W.D. BICKEL, W.T. HASKINS, K.C. MILNER, E. RIBI
(1967)
Chemical, Biological, and Structural Properties of Stable Proteus
L Forms and their Parent Bacteria
J. Bacteriol. 93: 1143-1159

WEIDEL, W., H. PELZER (1964)

Bagshaped Macromolecules - a New Outlook on Bacterial Cell Walls
Advances Enzym. 26: 193-232

WHITE, T.E., R.J. DOYLE, U.N. STREIPS (1981)

Transformation of a Bacillus subtilis L-Form with Bacteriophage
Desoxyribonucleid Acid
J. Bacteriol. 145: 878-883

WILLETT, H.P., H. THACORE (1967)

Formation of Spheroplasts of Mycobacterium tuberculosis by Lyso-
zyme in Combination with Certain Enzymes of Rabbit Peritoneal
Monocytes
Canad. J. Microbiol. 13: 481-488

WILLIAMS, J.E. (1975)

Paratyphoid Infections. In HOFSTAD, M.S. (ed.), Diseases of
Poultry. The Iowa State University Press, Ames

WINKLE, S. (1979)

Mikrobiologische und serologische Diagnostik mit Berücksichtigung
der Pathogenese und Epidemiologie, Fischer, Stuttgart

WINTERBAUER, R.H., L.T. GUTMAN, M. TURCK, R.J. WEDGWOOD, R.G.
PETERSDORF (1967)

The Role of Penicillin-induced Bacterial Variants in Experimental
Pyelonephritis
J. Exp. Med. 125: 607-618

WITTLER, R.G. (1965)

Discussion
Int. J. Leprosy 33: 555-560

WITTLER, R.G. (1968)

L-Forms, Protoplasts, Spheroplasts: A Survey of in vitro and in
vivo Studies. In GUZE, L.B. (ed.), Microbiaö Protoplasts,
Spheroplasts and L-Forms. pp. 200-211

WITTLER, R.G., Z.A. MCGEE, C.O. WILLIAMS, C. BURRIS, R.L. COHEN,
R.B. ROBERTS (1968)

Identification of L-Forms: Problems and Approaches. In GUZE, L.B.
(ed.) Microbial Protoplasts, Spheroplasts and L Forms, Williams &
Wilkins, Baltimore, pp. 333-339

WÜTIG, F.A. (1931)

Untersuchungen über die durch das Bakterium enteritidis bresla-
viense hervorgerufenen und mit Gelenksentzündung einhergehende
Taubenenzootie
Diss. Med. Vet. Gießen

WUTHE, H.-H. (1978)

Mikrobiologische Merkmale bei Salmonella typhimurium und ihre
Verwendbarkeit in der praktischen Epidemiologie
Habilitationsschrift, Kiel

WYRICK P., H. GOODER (1971)

Filterability of Streptococcal L-Forms

J. Bacteriol. 105, No.1: 284-290

WYRICK, P.B., H.J. ROGERS (1973)

Isolation and Characterisation of Cell Wall-Defective Variants of *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis*

J. Bacteriol. 116, No.1: 456-465

YOUNG, F.E., P. HAYWOOD, M. POLLOCK (1970)

Isolation of L-Forms of *Bacillus subtilis*, which Grow in Liquid Medium

J. Bacteriol. 102: 867-870

8. ANHANG

Fragebogen von der "Brieftaube" 105 (1988) Nr.10, Seite 413

Forschungsprojekt über Salmonellose bei Tauben

Das Institut für Geflügelkrankheiten bittet um Einsendung von folgendem Untersuchungsmaterial

1. Taubeneiern a) unbefruchtet
 b) abgestorben bis ca. Mitte der Brutzeit
 c) nicht geschlüpft (aber nicht angepickt)
2. Tauben mit Gelenksveränderungen (möglichst lebend)
3. Tauben, die zittern, den Kopf verdrehen oder andere nervöse Störungen zeigen,
sowie um Ausfüllung dieses Fragebogens.

Besitzer:

Name:

Straße:

Ort:

Telefon:

Behandelnder Tierarzt:

Name:

Straße

Ort

Telefon

Reisetauben:

Bestand Zuchtpaare:

wieviel Schläge:

Schon Salmonellen (Paratyphus) im Bestand gehabt?

Ja ☐ Nein ☐

wenn ja: gelegentlich ☐

regelmäßig (z.B. 1 mal jährlich) ☐

in welcher Form: plötzliche Bestandserkrankung ☐

langdauernde Krankheit mit Abmagerung ☐

mit Gelenkform ☐

mit Gehirnform ☐

nur Einzeltiere ☐

davon vorwiegend Jungtiere ☐

vorwiegend Nestlinge ☐

Rezepturen

L-Platte:

PPLO-Agar (Difco Nr. 0412-01) 35 g

Hefeautolysat - selbst hergestellt 60 ml

Aqua dest. ad 1000 ml

Autoklavieren bei 134° C; Abkühlen auf 56° C und 100 ml steriles, inaktiviertes (56° C, 30 min) Pferdeserum zugeben. In sterile Petrischalen ausgießen (90 mm Ø, ca. 4 mm dick).

L-Anreicherungsmedium:

PPLO-Broth (Difco Nr. 0554-01) 21 g

Hefeautolysat - selbst hergestellt 60 ml

Aqua dest. ad 1000 ml

Autoklavieren bei 134° C; Abkühlen auf 56° C und 100 ml steriles, inaktiviertes Pferdeserum zugeben; in sterile Reagenzgläser mit Stöpsel zu 9 ml abfüllen.

Hefeautolysat:

Es wurden 120 g Bäckerhefe in 200 ml Aqua dest. suspendiert und in einem bedeckten Glaskolben im Wasserbad bei 56° C über 48 h autolysiert. Der durch Zentrifugieren erhaltene Überstand wurde durch Seitz K-7 Filter klarfiltriert und im Gefrierschrank bei -20° C bis zum Gebrauch aufbewahrt.

Für die bakteriologische Untersuchung wurden Trockennährböden der Firma Oxoid bzw. Standardrezepturen verwendet.

Danksagung

Herrn Prof. Dr. J. Kösters möchte ich an dieser Stelle für die Überlassung des Themas danken.

Frau Prof. Dr. Dr. habil. H. Gerlach danke ich herzlich für die Betreuung der Arbeit und die stets gewährte, freundliche und hilfreiche Unterstützung bei der Fertigstellung.

Herrn Prof. Dr. Pietzsch vom Bundesgesundheitsamt in Berlin danke ich sehr herzlich für die Auswertung der Salmonella-Isolate.

Herrn Prof. Dr. H. Mahnel vom Institut für Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenmedizin danke ich verbindlichst für die freundlicherweise durchgeführten Untersuchungen am Elektronenmikroskop und die hilfreiche Erklärung der Schnitte.

Auch seiner Mitarbeiterin Frau Wolf möchte ich herzlich für die Unterstützung danken.

Allen Mitarbeitern am Institut für Geflügelkrankheiten danke ich für die nette Aufnahme und Unterstützung.

Für ihre Kollegialität danke ich allen Doktoranden am Institut für Geflügelkrankheiten.

Ganz besonders herzlich danke ich meinen Eltern für ihre Unterstützung.

Lebenslauf

Name: Dagmar Ingund Elisabeth Kießling

Geburtsdatum: 14.03.63

Geburtsort: Triberg

Eltern: Heinrich und Gisa Kießling, geb. Weixler

Abitur: Juni 1982 am Hans-Carossa-Gymnasium Landshut

Immatrikulation: September 1982 an der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Staatsexamen: November 1987

Approbation: Februar 1988

Promotion: Dezember 1987 bis April 1989 am Institut für
Geflügelkrankheiten

